

Untersuchung zur diagnostischen
Bedeutung der Einschlüsse
von myeloischen Zellen
in Megakaryozyten

Konrad Kleinknecht

*Diss
München
1975*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554825_0056

Aus der Abteilung für Knochenmarksdiagnostik an der
Medizinischen Klinik Innenstadt der Universität München
(Direktor: Prof.Dr.E.Buchborn)
und aus der Abteilung für Hämatomorphologie am Institut
für Hämatologie der Gesellschaft für Strahlen-
und Umweltforschung mbH, München
(Vorstand: Prof.Dr.R.Burkhardt)

Untersuchung zur diagnostischen Bedeutung
der Einschlüsse von myeloischen Zellen in
Megakaryozyten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Konrad Kleinknecht
aus Schwaigern

1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
München

Berichterstatter:	Prof. Dr. R. Burkhardt
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. E. Buchborn
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der Mündlichen Prüfung: 17. Januar 1985

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Literatur	
Emperipolesis	2
Megakaryopoese	7
Untersuchungsmaterial und Methode	11
Einteilung der Megakaryozyten	13
Differenzierung der Einschlüsse	15
Ergebnisse	
Megakaryopoese im gesunden Mark	19
Megakaryopoese bei den unter- suchten Krankengruppen	23
klinische Daten	26
Untergruppen der Megakaryozyten	31
Einschlüsse der Megakaryozyten	37
unterschieden nach ihrer Herkunft	41
bezogen auf die verschiedenen Untergruppen der Megakaryozyten	46
bezogen auf Gesichtfelder bei 250 facher Vergrößerung	51
Diskussion	57
Zusammenfassung	61
Literaturverzeichnis	63

Einleitung

BURKHARDT (1960) hat zuerst das Vorkommen von intrazytoplasmatischen Einschlüssen anderer myeloischer Zellen in den Megakaryozyten des Knochenmarks beschrieben.

Dieses Phänomen ist inzwischen vielfach untersucht, aber in seiner klinischen Bedeutung noch nicht aufgeklärt worden. Übereinstimmung besteht darüber, daß es sich von Phagozytose unterscheidet.

Aufgabe dieser Dissertation war es, an einem größeren Biopsiematerial das Vorkommen dieser sogenannten "Emperipolesis" auf seine klinische Bedeutung zu untersuchen.

Literatur (Emperipolesis)

HUMBLE (1956) und Mitarbeiter untersuchten die Aktivität der Lymphozyten an Hand von Gewebekulturen verschiedener maligner Tumoren. Dabei bemerkten sie die besondere Affinität dieser Zellen zu den Tumorzellen, zu Zellen die sich in Mitose befanden, aber auch zu Megakaryozyten. Mittels "time-lapse-cinemicrographie"-Technik beobachteten sie, wie die Lymphozyten, die zufällig an die Tumorzellen stießen, sich an der Oberfläche dieser Zellen entlangtasteten, schließlich innerhalb des Zytoplasmas zu erkennen waren und dort für mehrere Stunden verblieben. Bis zu zwölf Lymphozyten fanden sie in einer Tumorzelle, die dabei den Kern der Zelle an den Zellrand verdrängten.

Im Gegensatz zu den Tumorzellen zeigten die Lymphozyten in Beziehung zu den Megakaryozyten ein anderes Verhalten. Während sie in die Tumorzellen eindringen, blieben sie hier nur an der Oberfläche der Megakaryozyten haften.

HUMBLE, der bei seiner Untersuchung die Funktion der Lymphozyten bei malignen Erkrankungen im Auge hatte, unterstellte dem beobachteten Phänomen eine gewisse pathogenetische Bedeutung.

Das kinematographisch festgehaltene "inside round about wandering" der Lymphozyten nannte er nach PAGE "emperipolesis". Emperipolesis ist dabei als Neologismus der englischen Beschreibung des Phänomens zu betrachten, wobei die griechischen Worte "εἰς" für hinein, "περὶ" für drum herum (vergl. Peripherie) und "πόλῃσις" für Bewegung gewählt wurden. (WITTERN, 1983)

Vor HUMBLE hatten bereits FISCHER und DOLSCHANSKY (1929) über ähnliche Beobachtungen an Stromazellen der Milz von Kücken berichtet.

SHELTON und RICE (1958) beschrieben das Phänomen Emperipolesis bei malignen Lymphomen von Mäusen.

In diesem Jahr fand auch TROWELL (1958) Lymphozyten in Zellen verschiedener tierischer und menschlicher Gewebe.

SHELTON und DALTON (1959) führten dann elektronenmikroskopische Studien an einem Makrophagen, der verschiedene maligne Lymphozyten enthielt, durch. Sie konnten neben einer intakten Außenmembran des Makrophagen auch in seinem Inneren das Nebeneinander einer Membran des Makrophagen und einer ebenfalls intakten Zellmembran der Lymphozyten darstellen. Sie hielten es damit für erwiesen, daß zum einen die gefundenen Zellen sich tatsächlich im Inneren einer anderen Zelle befanden, und daß zum anderen die eindringenden Lymphozyten durch bestimmte, vielleicht immunologische Vorgänge vor eigentlicher Phagozytose geschützt seien.

BURKHARDT (1960) berichtete erstmals über die Teilnahme der Granulozyten an der Emperipolesis. Seine Photographie zeigt mehrere im Zytoplasma von Megakaryozyten eingeschlossene Granulozyten in einer Beckenkammbiopsie bei Morbus Feltz.

In weiteren Veröffentlichungen (BURKHARDT 1965, 1966) wies er dann auf die Bedeutung dieses Phänomens im Zusammenhang mit weiteren hyperergischen Mesenchymkrankheiten hin. Daneben sprach er auch erstmals von eingeschlossenen Normoblasten.

JOACHIM (1965) veröffentlichte Beobachtungen über Emperipolesis von lymphoiden Zellen.

Ein erster Vergleich der Häufigkeit dieser "granulozytären Phagozytose" zwischen verschiedenen rheumatischen Krankheiten ist dann einer Arbeit von BURKHARDT (1967) zu entnehmen.

MACDONALD (1968) konnte diese Befunde in seinem hämatologischen Atlas bestätigen. Man erkennt dort einen basophilen und einen granulierten Megakaryozyt, die in ihrem Zytoplasma je einen neutrophilen Granulozyten enthalten.

Da es sich bei diesen Bildern um Ausstrichpräparate handelte und deshalb auch an eine artifizielle Überlagerung der Granulozyten zu denken war, schlossen sie dies durch die starke mikroskopische Vergrößerung von 1:1200 und der damit verbundenen Differenzierungsmöglichkeit verschiedener optischer Ebenen des Objekts aus.

BURKHARDT (1969) fand eingeschlossene Granulozyten auch bei den Megakaryozyten von an Polyzythämia vera Erkrankten. An einer größeren Zahl von Myelotomien konnte er nun prozentuale Angaben über die Häufigkeit von Megakaryozyten mit Einschlüssen im Verhältnis zu ihrer Gesamtzahl machen. In einer Gesamtdarstellung der Knochenbiopsie (BURKHARDT 1970) wies er noch einmal auf die Bedeutung von in Megakaryozyten eingeschlossene myeloische Zellen bei der Beurteilung einer Myelotomie hin.

Diese Anregungen griff LARSEN (1970) auf und untersuchte das Knochenmark einer an Urämie, Diabetes mellitus und Thrombozytopenie leidenden Patientin an Hand von Zellkulturen und Knochenmarkschnitten. An den Gewebekulturen konnte er mit der schon genannten "time-lapse-cinematographie"-Technik Emperipolesis von Granulozyten in Megakaryozyten aufzeichnen, wobei der Aufenthalt der Granulozyten hier bis zu 30 Minuten betrug und sie hernach unversehrt den Megakaryozyten wieder verließen.

Mittels des Elektronenmikroskops sicherten sie an Serien-
dünnschnitten zweifelsfrei die intrazytoplasmatische Lage der Granulozyten. Sie konnten auch die oben erwähnten elektronenmikroskopischen Untersuchungen von SHELTON (1959), die eine klare Trennung der beteiligten Zellen durch je eine zur einschließenden und eine zur eingeschlossenen Zelle gehörenden Membran nachwiesen, bestätigen.

Neben neutrophilen Granulozyten fanden sie nun auch eosinophile Granulozyten und Metamyelozyten an der Emperipolesis beteiligt.

Durch die beschriebenen Untersuchungen war die Erklärung dieses Phänomens als durch Überlagerung bedingte artifizielle Veränderung gegenstandslos geworden. Trotzdem wurde von HAEMERLI (1977) die Erklärung dieses Phänomens in der Unterwanderung von Zellen unter andere gesucht.

Seit 1970 findet die Bedeutung dieses Vorgangs verstärkte Aufmerksamkeit. Es wurden auch eingeschlossene Erythrozyten gezeigt und die Bezeichnung "Intussusception" vorgeschlagen. (BURKHARDT 1970)

Elektronenmikroskopisch fanden CHEN (1972) in Megakaryozyten eingeschlossene leukämische Zellen bei Ratten, TANAKA und GOODMAN (1972) eingeschlossene Lymphozyten beim Menschen.

In Megakaryozyten eingeschlossene reife Thrombozyten erwähnten CAWLEY (1973) und BRETON-GORIUS (1973,1976). ZUCKER-FRANKLIN (1975) zeigte elektronenmikroskopische Aufnahmen pathologisch alterierter Megakaryozyten mit eingeschlossenen Erythrozyten bei Myelofibrose und Osteomyelose. Sie sprach von Phagozytose und bezeichnete sie in solchen Fällen als nicht ungewöhnlich.

Wenn auch immer wieder der Ausdruck Phagozytose Verwendung fand, so waren doch die meisten Autoren davon überzeugt, daß die beobachteten Vorgänge nicht zur Auflösung der aufgenommenen Zellen führten. So spricht auch das aktive Eindringen der Zellen, wie es in den Filmstudien beobachtet wurde, gegen eine Phagozytose. Da Elektronenmikroskop zeigte, wie schon erwähnt, keine Beeinträchtigung der Zellmembran der aufgenommenen Zellen.

Deshalb hat sich der zuerst für die malignen Zellen gewählte Begriff Emperipolesis auch für die Megakaryozyten eingebürgert, und zwar für die Aufnahme nahezu aller Zellen des Knochenmarks in die typischen Riesenzellen.

An Hand von Untersuchungen mit einem "tracer", der nicht in die Megakaryozyten, jedoch in die Peripherie der aufgenommenen Zellen eindrang, konnte BRETON-GORIUS (1981) die Lokalisation der eingeschlossenen Zellen noch spezifizieren. Da von der Zelle eine Verbindung zum Medium außerhalb des Megakaryozyten angenommen werden mußte, denn ohne diese hätte der "tracer" nicht in der aufgenommenen Zelle gefunden werden können, lokalisierten sie die aufgenommenen Zellen in die Gänge des "demarcation membrane system" der Megakaryozyten. Dieses System entwickelt sich aus Einstülpungen der äußeren Zytoplasmamembran der Megakaryozyten und behält lange Verbindungen zum äußeren Medium. (BEHNKE 1968,1974, GEYER 1972, SHAKLAI 1978)

Immer wieder wurde von den Autoren die Beziehung der Emperipolesis zu den malignen Erkrankungen hervorgehoben. So fand KINET-DENOEL (1973) dort ein gehäuftes Vorkommen. Andere fanden das Phänomen auf wenige Patienten beschränkt, aber dort sehr ausgeprägt vorkommend. (SOBOLEWSKI 1980) Nach SAHEBEKHTIARI (1976) ist die Kombination von maligner Erkrankung und Blutverlust besonders häufig mit dem Auftreten von Emperipolesis in Knochenmarksausstrichen verbunden.

HALIL (1980) weist daraufhin, daß Emperipolesis relativ häufig ist und daß sie oft übersehen werde.

BRETON-GORIUS (1981) berichtet schließlich auch über ihr Vorkommen im normalen Knochenmark.

Trotz zahlreicher Beobachtungen ist die Bedeutung der Emperipolesis bei den Megakaryozyten bei Kranken und Gesunden immer noch unbekannt.

Literatur (Megakaryopoese)

Unsere Einteilung der Entwicklungsstufen der Megakaryozyten lehnt sich an die folgenden Beobachtungen an. Der Megakaryozyt entsteht ebenso wie die anderen Zellen des Knochenmarks aus einer morphologisch nicht unterscheidbaren Stammzelle.

Die erste erkennbare Vorstufe ist der Megakaryoblast, der sich durch Endomitose schließlich zu einer reifen Form entwickelt, um zuletzt in die Blutplättchen (Thrombozyten) zu zerfallen. Dieser Zusammenhang wurde zuerst von WRIGHT (1906, 1910) gesehen und von BURKHARDT (1969) auch für das menschliche Knochenmark durch Serienschnitte belegt.

BESSIS (1954) unterschied am panoptisch gefärbten Knochenmarksausstrich vier Stufen der Entwicklung:

den Megakaryoblasten, den basophilen Megakaryozyten, den granulierten Megakaryozyten und den Thrombozyten produzierenden Megakaryozyten.

EBBE und STOHLMANN (1965) fassten die beiden letzten Stufen zusammen.

ODELL (1974) teilte die Megakaryozyten nur noch in reife und unreife ein.

Das lichtmikroskopische Bild aller Reifungsstufen der Megakaryozyten wurde in Semidünnschnitten zuerst im Atlas von BURKHARDT (1970) gezeigt.

Teilweise sind in der Literatur für die genannten Stufen noch weitere Namen in Gebrauch, so wird der basophile Megakaryozyt oft auch als Promegakaryozyt bezeichnet (MACDONALD 1968).

LEVINE (1982) unterschied dann wieder vier Stufen: den Megakaryoblasten, den Promegakaryozyten, den granulierten Megakaryozyten und den reifen Megakaryozyten.

Die dargestellte Abweichung in der Einteilung erklärt sich zum Teil durch die verschiedenen Untersucher, aber auch dadurch, daß das Material häufiger von verschiedenen kleinen Säugetieren stammte als vom Menschen.

Grundsätzlich bleibt die Unterscheidung bestimmter Reifungsstadien einer Zelle an die vom Untersucher willkürlich vorgegebenen Kategorien gebunden.

Der Megakaryoblast wird von LEVINE (1980, 1982) lichtmikroskopisch als 6 - 24 Mikrometer große Zelle mit basophilem, schmalem Zytoplasma und dichtem, jedoch bereits leicht gelapptem Kern beschrieben.

Die weitere Entwicklung führt dann über eine Vergrößerung von Kern und Zytoplasma bis zu einer maximalen Zellgröße von ungefähr 150 Mikrometer. Dabei verschiebt sich die Kern-Plasma-Relation zu Gunsten des Zytoplasmas und die Ein- und Ausbuchtungen des Kerns vergrößern sich.

Zunächst beschreibt der Kern die Form eines Hufeisens, dann verliert sich diese Form bei der Vervielfachung des Kernmaterials durch die oben erwähnte mitotische Teilung ohne anschließende Zytoplasmateilung in einem Konvolut, das sich zum Lebensende der Zelle wieder verdichtet und schließlich als pyknotischer Einzelkern ohne Zytoplasma noch für eine Weile im Knochenmark zu erkennen ist.

Das Zytoplasma gewinnt dabei zunehmend an Eosinophilie, erscheint granuliert, Areale der zukünftigen Blutplättchen grenzen sich ab und am Ende verliert sich der scharf abgrenzbare Zytoplasmarand und die Absetzung der Plättchen wird erkennbar.

Elektronenmikroskopisch imponiert (ZUCKER-FRANKLIN 1981) beim Blasten die Fülle der Ribosomen, was dessen Basophilie erklärt, danach entwickeln sich zunächst nur perinucleär die Lysosomen während der Gehalt an Ribosomen abnimmt. Die am Ende reichlich vorhandenen azidophilen Granula sind dann für den Farbumschlag ins Eosinophile verantwortlich.

BESSIS (1976) unterschied darüberhinaus noch zwei funktionell verschiedene Phasen der Entwicklung, wobei die erste die Vervielfältigung des DNA-Gehaltes des Kerns umfasst, während die zweite als Reifungsphase bezeichnet wird. Die Vervielfältigungsphase führt bis zum 32 fachen ($64 N$) des normalen ($2 N$) DNA-Gehalts, der nach fünffacher mitotischer Kernteilung und anschließender DNA-Reduplikation ohne Zellteilung erreicht wird.

Dieser hohe DNA-Gehalt wird allerdings nur von wenigen Zellen erreicht, die Mehrzahl der Megakaryozytenkerne (76%) besitzen einen DNA-Gehalt von $16 N$.

Während dieser Phase verbleibt die Zelle im Schnitt oder Ausstrich in runder Zytoplasma und Kerngestalt.

Erst nach Abschluß dieser Phase, die allerdings auf jeder beliebigen Stufe des DNA-Gehalts sistieren kann, tritt der Megakaryozyt dann in die oben geschilderte Reifungsphase ein.

Die Größe eines Megakaryozyten ist daher nach BESSIS kein Kriterium, um die Reife der Zelle zu beurteilen.

Während also nach BESSIS verschieden große basophile Megakaryozyten existieren, die noch keine Zeichen der Ausreifung erkennen lassen, lehnt er den Begriff basophiler Megakaryoblast für diese Zellen aber ab, da Blasten per definitionem zur vollständigen Zellteilung befähigt sein müßten. Er bezeichnet diese polyploiden Zellen deshalb als basophile Megakaryozyten, und als Megakaryoblasten die im Mark nicht zu differenzierenden Vorläufer dieser Zellen.

Dieser Ansicht ist auch BRETON-GORIUS (1976). Sie hält die di- und tetraploiden Vorläufer ebenfalls für weder lichtmikroskopisch noch mit konventioneller Elektronenmikroskopie differenzierbar. Nach anderen Autoren sind sie dagegen mittels markiertem Thymidin, oder durch Antikörperbindung sichtbar zu machen (FEINENDEGEN 1962).

Sie sollen an Hand ihres von Anfang an gelappten Kerns von den anderen Zellen des Knochenmarks unterschieden werden können (FEINENDEGEN 1962, EBBE 1965, ODELL 1968)

Nach einer neueren Untersuchung von LEVINE (1982) sind es neben diesen Blasten insgesamt 20 - 25% der gesamten Megakaryozyten, die eine Zellgröße von weniger als 20 Mikrometer besitzen und daher nicht ohne weiteres lichtmikroskopisch von anderen Zellen des Marks unterschieden werden können. Nur Zellen mit größerem Durchmesser wären demnach mit Sicherheit als Megakaryozyten anzusprechen. Der kleinste beobachtete Megakaryozyt wird von MACPHERSON (1971) mit 10 Mikrometer angegeben.

Anders liegen die Verhältnisse in Semidünnschnitten nach Methacrylateinbettung. In denen können Megakaryoblasten noch vor der Kernlappung in der Regel durch die etwas größeren Kerne, die feinere Chromatinstruktur und die größeren, meist runden Nukleolen von den Proerythroblasten unterschieden werden. (BURKHARDT 1970)

Abnorme Megakaryozyten kommen vor allem bei Krankheiten vor, wo sie unter Umständen völlig das Bild beherrschen. (ZUCKER-FRANKLIN 1975, BURKHARDT 1970 und Atlas 1970)

Elektronenmikroskopisch zeigen sie neben ihrer ungewöhnlichen Größe eine extreme Lappung des Zellkerns. Das Zytoplasma erscheint kaum gereift, das "demarcation-membrane-system" kaum entwickelt und nur an wenigen Stellen sind Blutplättchen zu erkennen (LAGERLÖF 1972).

Untersuchungsmaterialial und Methode

Für die vorliegende Studie wurden aus der Vielzahl hämatologischer Krankheitsbilder diejenigen ausgewählt, bei denen sich eine reaktive oder neoplastische Vermehrung der Megakaryozyten findet.

Von je 50 Kranken mit idiopathischen thrombozytopenischen Purpura (ITP), Polyzythämia vera (PV), chronisch myeloischer Leukämie (CML), Myelofibrose (MF), Osteomyelosklerose (OMS), primärer Thrombozythämie (PT) und megakaryozytärer Myelose (MM) wurden die histologischen Präparate der Beckenkammbiopsien lichtmikroskopisch untersucht.

Zum Vergleich wurden als Normalfälle (Norm) 100 Präparate ausgewählt, bei deren histomorphologischer Beurteilung keine pathologischen Veränderungen festgestellt werden konnten, und die von Patienten stammten, die weder eine Tumorkrankheit aufwiesen, noch mit Medikamenten vorbehandelt worden waren. Die beiden letzten Forderungen galten entsprechend auch für die obigen Untersuchungsgruppen.

Ausschlaggebend war dabei neben der nach klinischen und histologischen Merkmalen gesicherten Diagnosestellung auch die ausreichende Größe (mind. 4x15 mm) der Biopsie und die technische Qualität der histologischen Präparate.

Zur Auswertung gelangten jeweils 3 Mikron dünne Schnitte von Myelotomien, vereinzelt auch von ausreichend großen Stanzbiopsien, fast ausschließlich aus dem vorderen Beckenkamm.

Die Präparate waren fixiert, eingebettet und gefärbt nach dem von BURKHARDT (1966, 1970) angegebenen Verfahren.

Vorraussetzung war die Auswertbarkeit von 20 mikroskopischen Gesichtsfeldern des Markgewebes bei 250 facher Vergrößerung. Um geschlechtsspezifische Unterschiede mitzuerfassen, wurden in jeder Gruppe 25 Männer und 25 Frauen ausgewählt.

Bei den Normalfällen ergab sich die Notwendigkeit 100 Fälle auszuwerten, um eine Aussage über die Altersabhängigkeit der Megakaryopoese und der Emperipolesis treffen zu können. Für die Vergleiche mit den Krankengruppen wurden davon 50 mit entsprechender Altersverteilung wie in den anderen Gruppen ausgewählt.

Insgesamt wurden somit 450 Präparate beurteilt.

Die Beurteilung erfolgte Lichtmikroskopisch bei 250 facher Vergrößerung. Die 20 Gesichtsfelder wurden in jeweils gleicher Reihenfolge zufällig so in die Markräume gelegt, daß Überschneidungen vermieden wurden. Dabei wurden sub-corticale Fettgewebsareale, oder übergroße, blutgefüllte Sinus von der Auswertung ausgeschlossen.

Die ausgewertete Fläche betrug jeweils $7,4 \text{ mm}^2$.

Die auf diese Weise angetroffenen Megakaryozyten wurden gezählt und nach ihrem Reifungszustand den verschiedenen Untergruppen zugeteilt.

Dabei wurde darauf geachtet, ob im Zytoplasma der Megakaryozyten eine andere Zelle eingeschlossen war. Diese wurde bestimmt und festgehalten.

Mit dieser Methode ergab sich bei mehrfacher Auswertung des gleichen Präparats eine Standartabweichung von $\pm 6\%$ des Mittelwerts.

Für jede Krankheitsgruppe wurde danach Mittelwert und Standartabweichung der Einzelergebnisse berechnet. Die gefundenen Werte wurden in den Abbildungen vergleichend gegenübergestellt. Auf eine weitergehende statistische Bearbeitung des Zahlenmaterials wurde wegen der hohen Streubreite der Einzelwerte je Gruppe verzichtet, weil eine solche Aufarbeitung keine weiterreichenden Schlüsse hier zulassen würde.

Einteilung der Megakaryozyten in die Untergruppen

Hierbei wurden folgende von BURKHARDT angegebene, im Acrylat-schnitt klar erkennbare Merkmale berücksichtigt. Megakaryoblasten und in Mitose befindliche Megakaryozyten wurden dabei vernachlässigt.

- 1) Kerngröße, -konfiguration und
-chromatinmuster

- 2) Zytoplasmastruktur und -abgrenzung

Die Möglichkeit, daß Zellschnitte nicht die wahren Größen- und Formverhältnisse wiedergeben, mußte in Kauf genommen werden. Bei konstanter Schnittdicke bleibt aber die Grundlage für eine vergleichende, relative Beurteilung erhalten.

Jugendliche Megakaryozyten (Abb.1)

Die Zellen sind vergleichsweise klein. (30-60 Mikrometer)
Der Kern ist zentral gelegen, rundlich oder hufeisenförmig und nicht gelappt. Je nach Schnittebene werden eine oder zwei Kernanschnittsflächen sichtbar.

Die Zytoplasmabegrenzung ist scharf, die Schnittfläche kreisförmig bis elliptisch.

Reife Megakaryozyten (Abb.2)

Die Zellen sind größer (50-150 Mikrometer)

Die Kerne sind mehr zu einem Pol verschoben und mehrfach gelappt.

Die Zytoplasmabegrenzung ist scharf. Auf der Schnittfläche erscheint das Zytoplasma elliptisch und zum Teil mit Ausbuchtungen.

Zerfallende Megakaryozyten (Abb.3)

Die Zellgröße beträgt 30 bis 100 Mikrometer.

Die Zellkerne zeigen Chromatinverdichtung, sind insgesamt kleiner, dichter am Zellrand liegend und gelappt.

Die Zytoplasmabegrenzung ist unscharf, wie "ausgefranst".

Neben den ausgezipfelten Zytoplasmaausläufern sind Thrombozyten abgrenzbar.

Pyknotische Megakaryozyten (Abb.4)

Dies sind Einzelkerne ohne Zytoplasma mit stark verdichtetem Chromatin. Die verdichtete Kernfläche läßt keine Lappung mehr erkennen.

Atypische Megakaryozyten (Abb.5)

Die Zellen sind meist außergewöhnlich groß. (mehr als 100 Mikrometer)

Häufig sind sie in Grüppchen zusammengelagert, manchmal so dicht, daß die Abgrenzung der einzelnen Zellen schwerfällt.

Die Zellkerne sind groß, stark gelappt, und häufig lassen sich schon Zeichen der Kernpyknose erkennen.

Die Zytoplasmabegrenzung ist immer unscharf und auffallend bizarr. Die Zytoplasmaperipherie zeigt meist einen dunkel gefärbten, granulierten Saum.

Weiter zentralwärts wechseln streifig dichter gefärbte mit ungefärbten Arealen, ein meanderförmiges Muster bildend.

Differenzierung der Einschlüsse der Megakaryozyten

Im Rahmen unserer Untersuchung wurde das Phänomen Emperipolesis als bekannt vorausgesetzt.

Zur Diagnose im Schnittpräparat wurden folgende Bedingungen gestellt:

- 1) Eine Fremdzelle erscheint im Schnitt vollständig vom Zytoplasma des Megakaryozyten umschlossen.
- 2) Eine Fremdzelle, an der Peripherie eines zerfallenden, oder atypischen Megakaryozyten gelegen, ist zumindestens zu 2/3 ihres Umfangs vom Zytoplasma des Megakaryozyten dicht und glattrandig umschlossen.

Unterschieden wurden Megakaryozyten ohne jeden Zelleinschluß von solchen mit einem oder mehreren Einschlüssen.

Die eingeschlossenen Zellen wurden nach ihrer Herkunft charakterisiert, was im allgemeinen keine großen Schwierigkeiten bereitete.

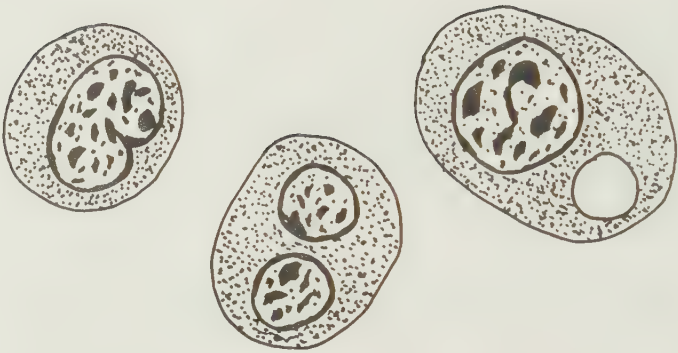


Abb.1: jugendliche Megakaryozyten, rechts mit Erythrozyt

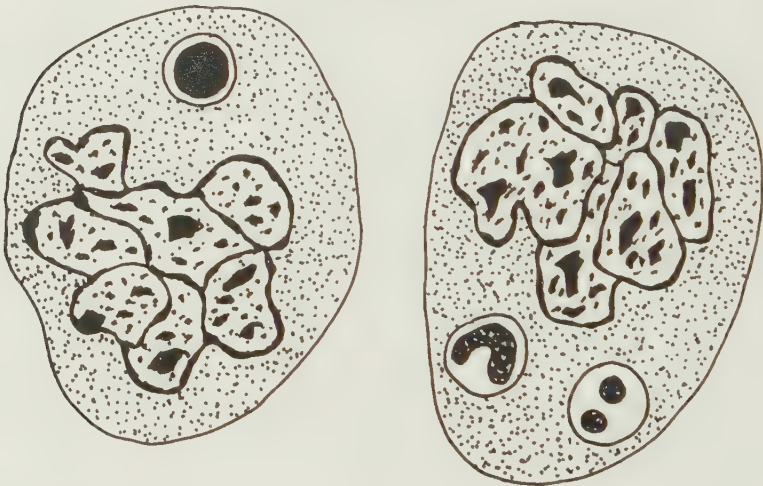


Abb.2: reife Megakaryozyten, links mit eingeschlossenem Normoblasten, rechts mit Granulozyten

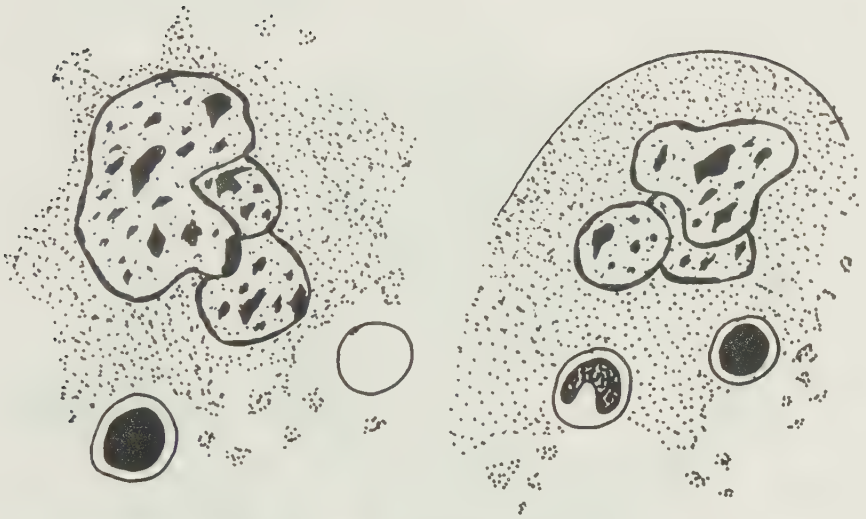


Abb.3: zerfallende Megakaryozyten, die Zellen links werden als nicht eingeschlossen, der Granulozyt und Normoblast rechts als eingeschlossen betrachtet

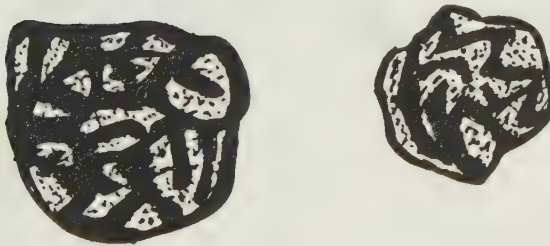


Abb.4: pyknotische Megakaryozyten, verdichtetes Kernmaterial ohne Zytoplasma



Abb.5: atypische Megakaryozyten, oben mit eingeschlossenen Erythrozyten, unten mit Normoblast und Granulozyt

Untersuchungsergebnisse

Megakaryopoese im gesunden Knochenmark

Zur Charakterisierung der Geschlechts- und Altersabhängigkeit der Megakaryopoese beim Gesunden, wurde die Gesamtzahl von 100 Myelotomien in vier Gruppen unterteilt. (Abb.6) Es ergab sich ein Mittelwert von 768 Megakaryozyten auf 100 mm^2 für 70 erwachsene Personen mit einem Durchschnittsalter von 49 Jahren, gegenüber 991 Megakaryozyten auf 100 mm^2 für 30 Jugendliche mit einem Durchschnittsalter von 11 Jahren.

Die Abnahme der Megakaryozytenzahl je Flächeneinheit mit zunehmendem Alter entspricht der Zunahme des Fettanteils im Knochenmark des Erwachsenen.

Bei den männlichen Erwachsenen fand sich eine um 7 % und bei den männlichen Jugendlichen eine um 4 % höhere Megakaryozytenzahl als bei den entsprechenden weiblichen Altersgruppen.

Die im Kollektiv gefundenen Unterschiede der Mittelwerte fallen aber zu gering aus, als daß sie für die Beurteilung des Einzelfalls von Bedeutung sein könnten.

Abb.7 zeigt die breite Streuung der Einzelwerte bei den untersuchten Normalfällen.

Zusammenfassend kann man sagen, daß bei der verwendeten 250 fachen Vergrößerung bei 65 % der gesunden Personen 2 - 4 Megakaryozyten je Gesichtsfeld im Knochenmark erwartet werden dürfen.

Die Megakaryozyten konnten im Normalkollektiv folgendermaßen auf die Untergruppen verteilt werden.

Es fanden sich 21 % jugendliche, 46 % reife, 30 % zerfallende, 2 % pyknotische und 1 % atypische Megakaryozyten.

Abb.6: Megakaryozytenzahl/100 mm² bei den Normalfällen. ($\bar{x}$ +/ - s)

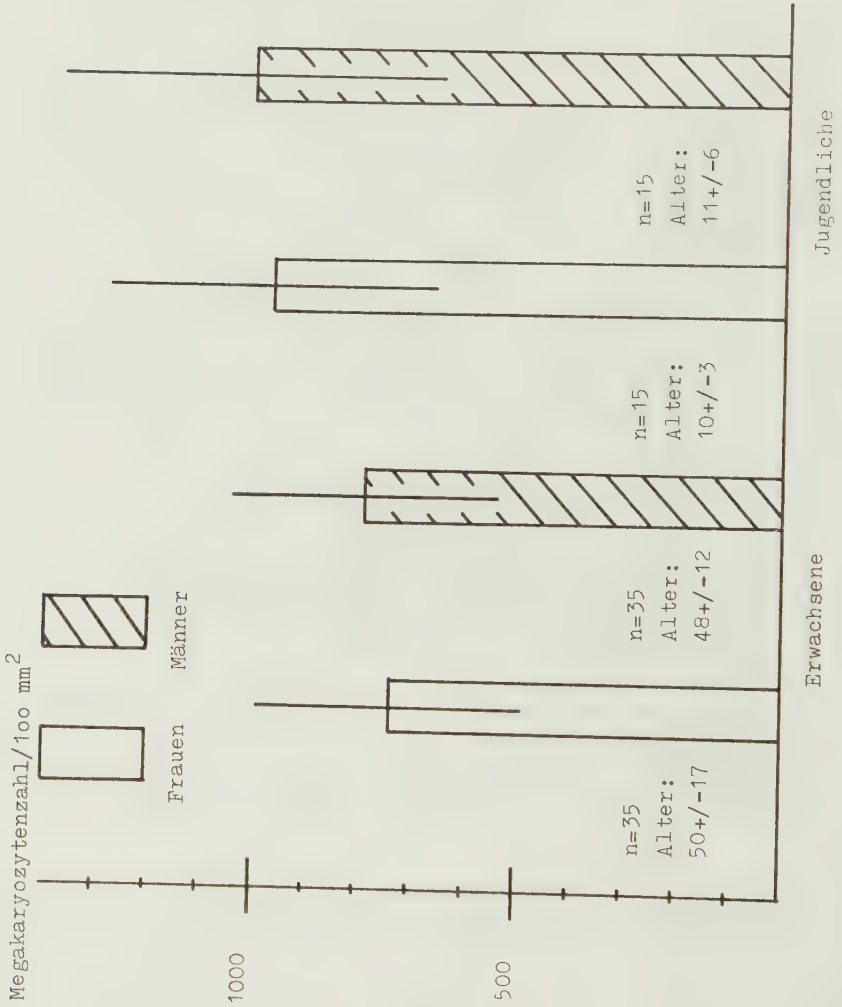


Abb.7: Altersabhängigkeit der Megakaryozytenzahl

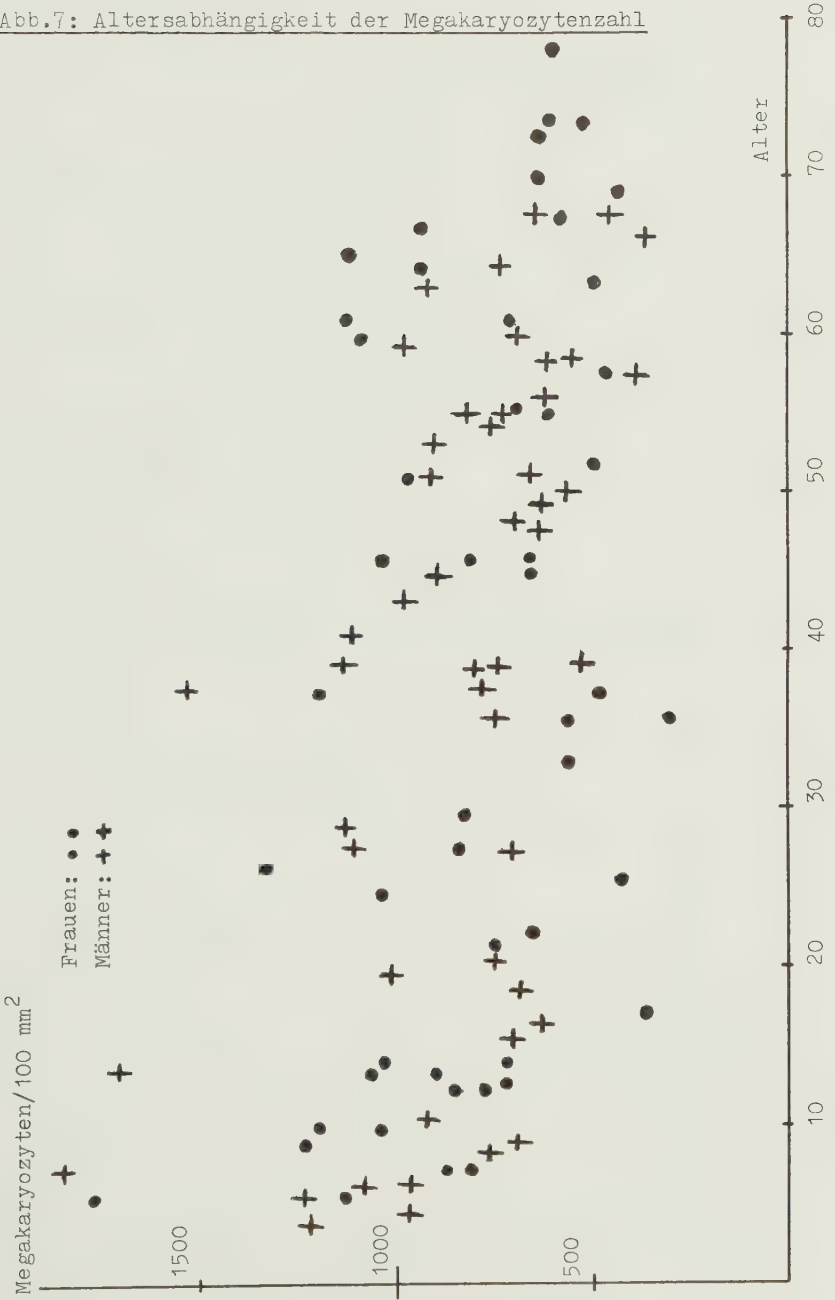
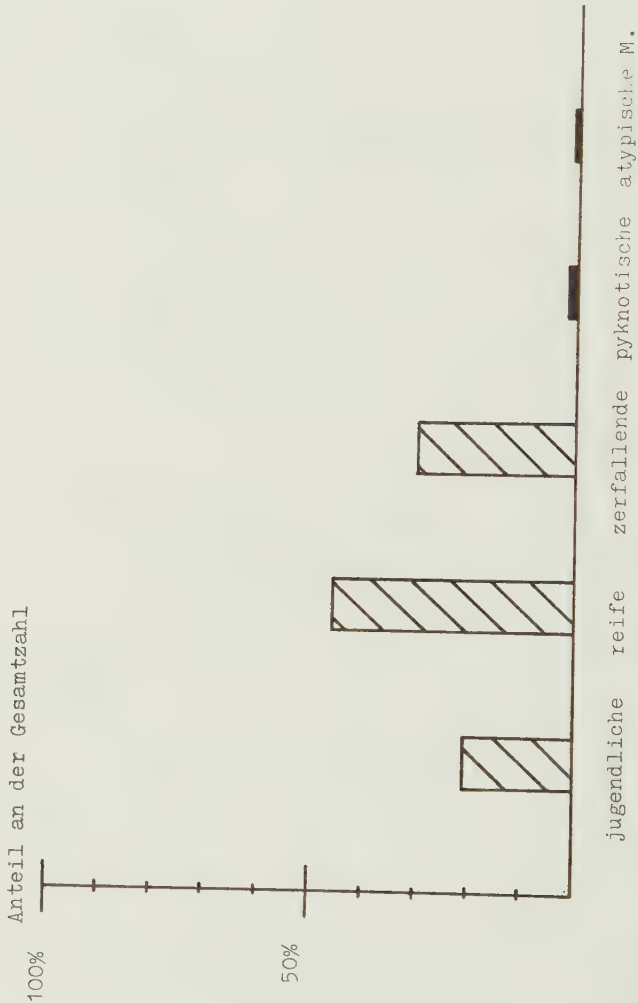


Abb.8: Verteilung der Megakaryozyten auf die Untergruppen bei den Normalfällen



Megakaryopoese bei den Krankengruppen

Abb.9 zeigt eine Gegenüberstellung der durchschnittlichen Megakaryozytenzahlen / 100 mm^2 zwischen den verschiedenen Krankengruppen und den Normalfällen.

Man erkennt, daß die Mittelwerte bei allen untersuchten Gruppen gegenüber den Normalfällen erhöht sind.

Mäßig bei ITP und CML, mehr als doppelt so hoch bei den anderen myeloproliferativen Erkrankungen.

Gleichzeitig wird die hohe Streubreite der Einzelwerte um die Mittelwerte jeder Gruppe ersichtlich.

Dieser Zusammenhang wird für den Untersucher auf Abb. 10 noch deutlicher dargestellt.

Die schraffierte Fläche entspricht jeweils der einfachen Standardabweichung, also dem Bereich, in dem ca. 65 % der Einzelwerte zu finden waren.

Dort und bei den weiteren Abbildungen wurde die Trennung zwischen Männern und Frauen aufgegeben, da nur unerhebliche und wechselnde Unterschiede zwischen den Geschlechtern bestehen.

Abb.9: Megakaryozytenzahl/100 mm² ($\bar{x}$ +/-sd)

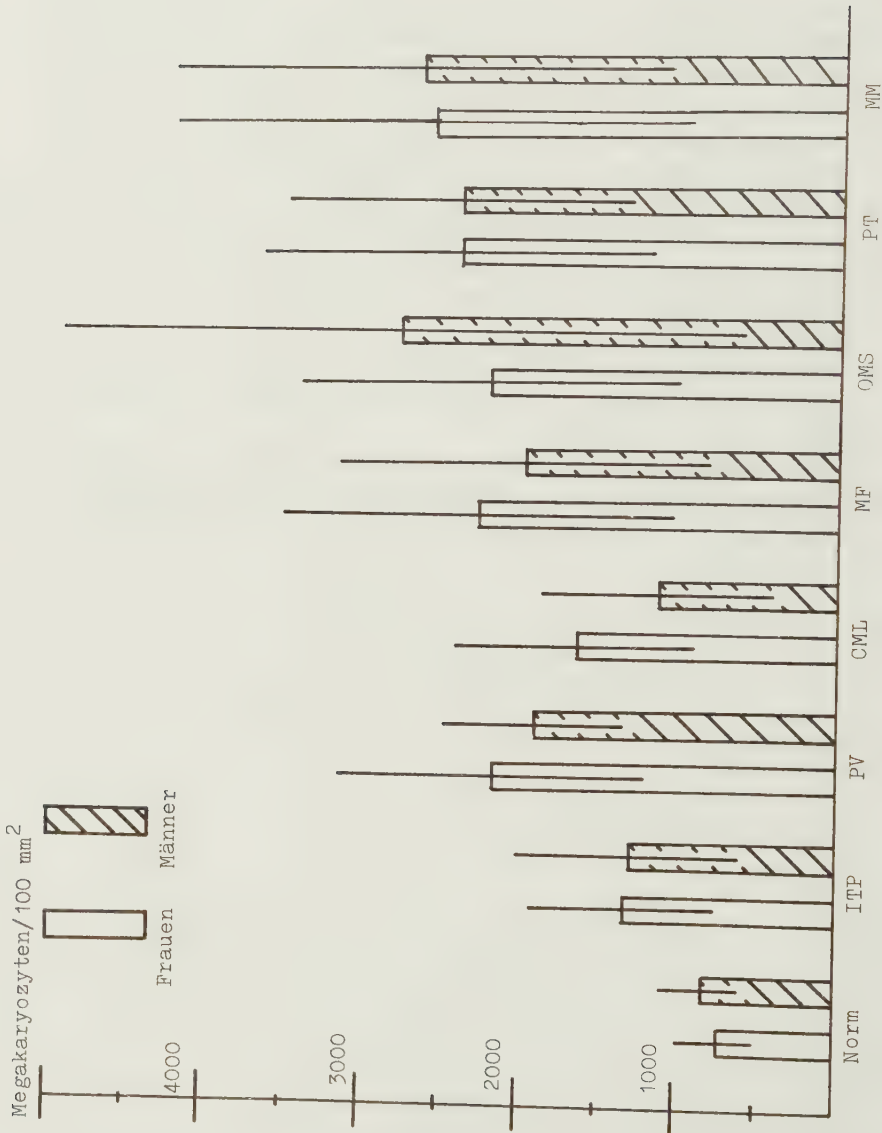
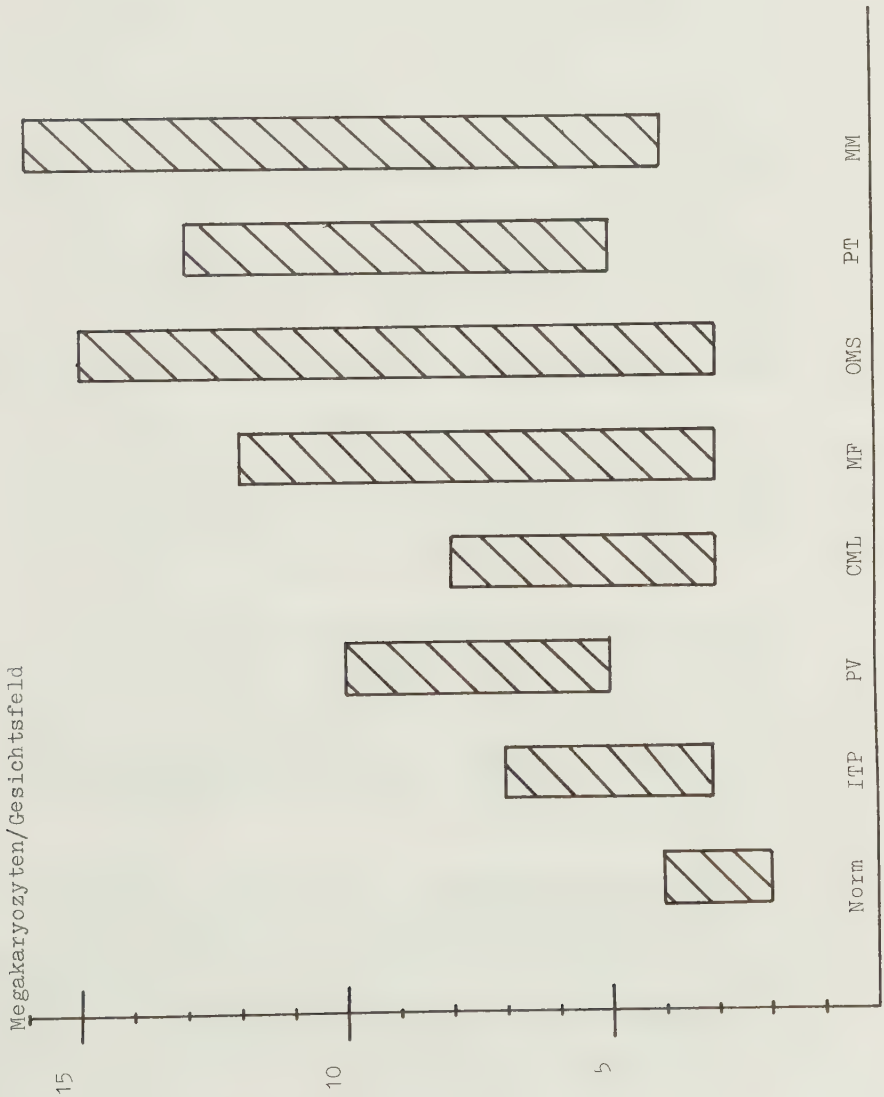


Abb. 11: Megakaryozyten je Gesichtsfeld bei 250 facher Vergrößerung ($\bar{x} \pm \text{sd}$)



klinische Daten

Die Altersverteilung (Abb.11) zeigt ein annähernd gleiches Durchschnittsalter bei den Normalfällen und den Krankengruppen. Damit ist ein Vergleich der Gruppen auch bei gegebener Altersabhängigkeit der Megakaryozytenzahl möglich. Da die Einzelfälle unsortiert aus einer großen Fallsammlung ausgewählt wurden, wird durch den etwas niedrigeren Mittelwert bei ITP und CML der zum niedrigeren Alter vorgeschobene Häufigkeitsgipfel dieser Erkrankungen bestätigt.

Die Erythrozytenzahl (Abb.12) ist ausschließlich bei PV gegenüber den Normalfällen erhöht. Alle übrigen untersuchten Krankheitsbilder der Myeloproliferation sowie ITP zeigen eine mittelgradige, in Einzelfällen oft schwere Anämie.

Die erhöhte Zahl der Leukozyten ist das diagnostische Kriterium der CML (Abb.13), in geringerem Maß auch der PV. MM und ITP zeigen keine gegenüber der Norm erhöhten Durchschnittswerte. In den meisten Fällen von MF, OMS und PT ist eine geringe bis mittelgradige Leukozytose vorhanden.

Den diagnostischen Kriterien entspricht die durchschnittliche Steigerung der Thrombozyten (Abb.14) auf Werte über 1 Million bei der PT und die Plättchenverminderung unter 50 000 bei den ITP. Leicht überdurchschnittliche Werte ergeben sich für PV und CML, etwas unter dem Normdurchschnitt liegen die Werte für MF, OMS und MM. In allen Fällen ist die Streubreite der Werte groß.

Die erhobenen klinischen Daten standen in den einzelnen Fällen jeweils mit der gestellten Diagnose in Einklang. Eine Beziehung zur Megakaryopoese oder zur Emperipolesis konnte nicht festgestellt werden. Auffallend dabei war, daß auch die Höhe der Thrombozyten im einzelnen Fall keine Korrelation zur Zahl der Megakaryozyteneinschlüsse erkennen ließ.

Abb. 11: Altersverteilung ($\bar{x} \pm \text{sd}$)

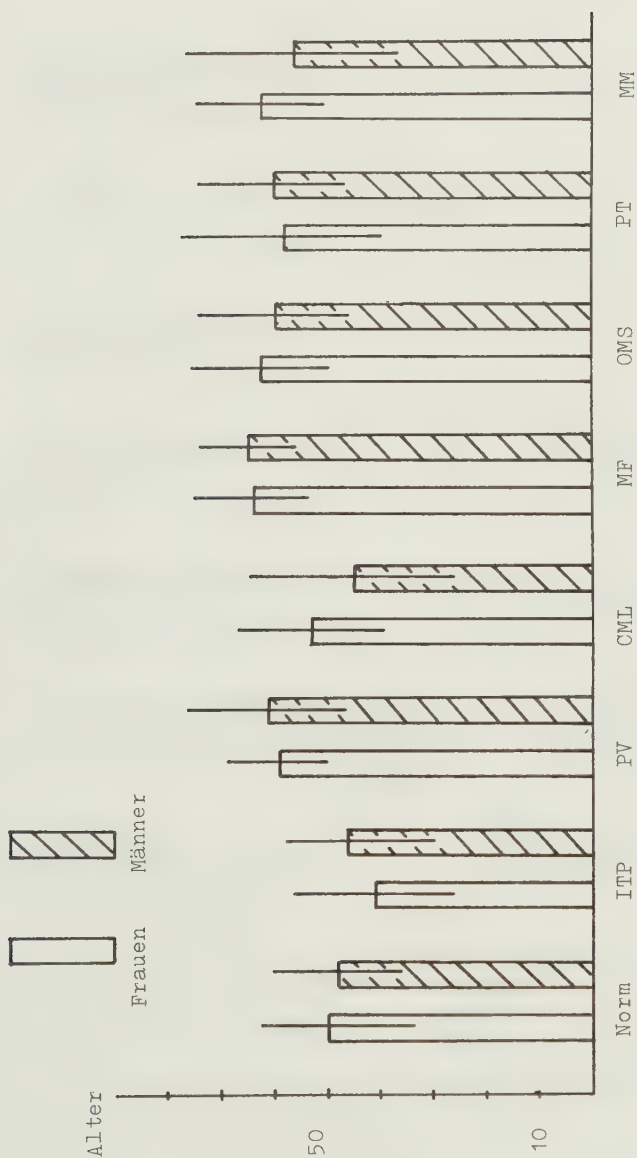


Abb.12: Erythrozytenzahl ($\bar{x}_+/-sd$)

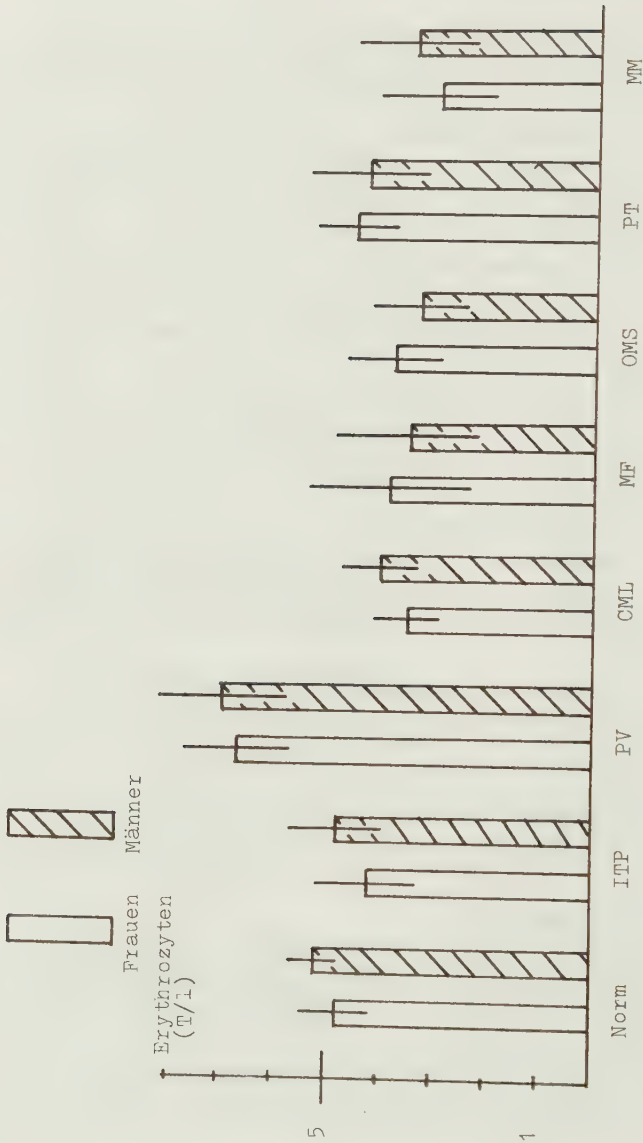


Abb.13: Leukozytenzahl ($\bar{x} \pm \text{sd}$)

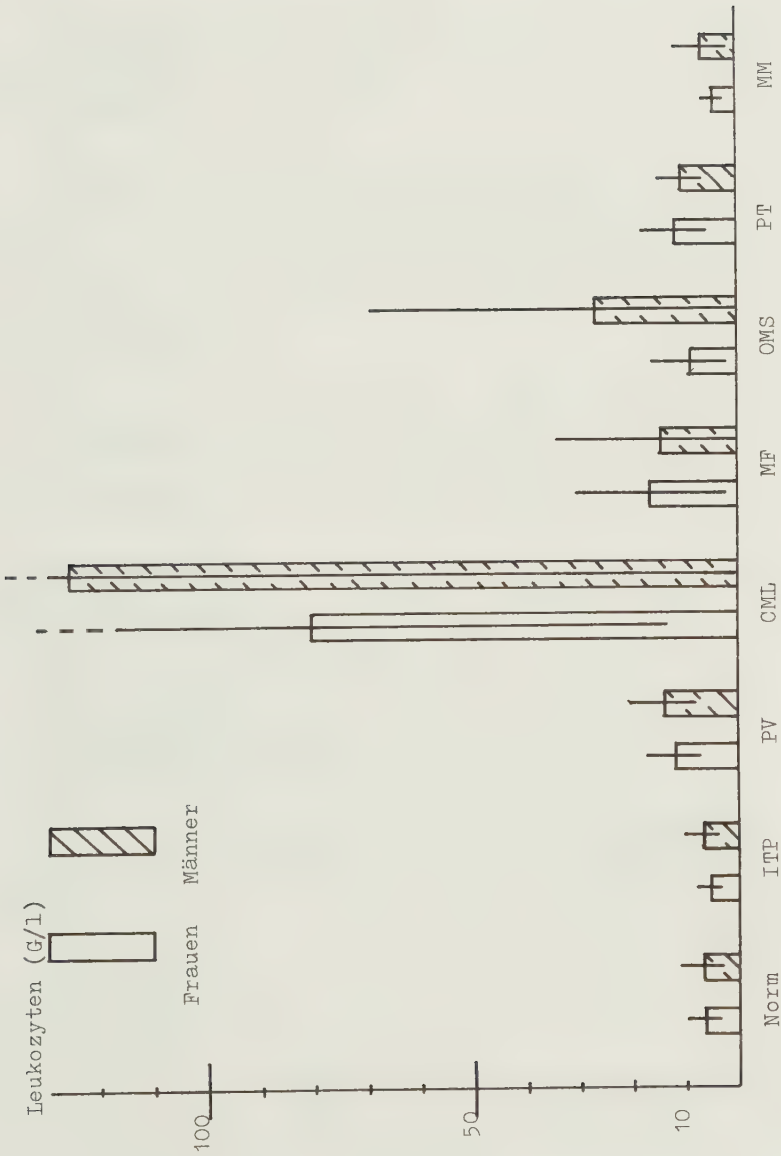
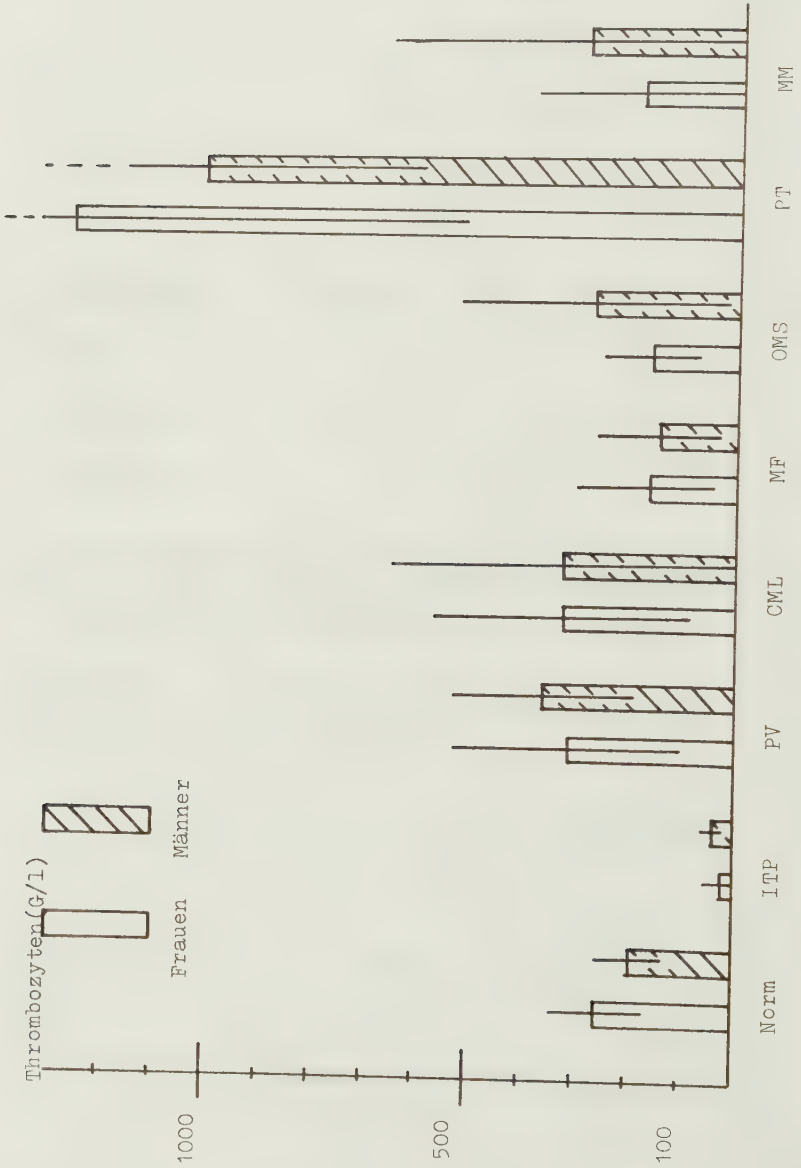


Abb.14: Thrombozytenzahl ($\bar{x} \pm \text{sd}$)



Verteilung der Megakaryozyten auf die Untergruppen (Abb. 15-19)

Der Anteil der jugendlichen Megakaryozyten (Abb. 15) beträgt 21 % bei den Normalfällen, 18 % bei ITP, MF und PT. Dieser Durchschnittswert liegt niedriger bei PV (11%) und OMS (7%). Ein deutlich über die Norm erhöhter Anteil findet sich mit 46 % bei CML und 50% bei MM.

Der Anteil der reifen Megakaryozyten (Abb. 16) beträgt 46 % bei den Normalfällen und 47 % bei ITP. Etwas darunter liegen die Werte für PV (36 %), PT (35 %). Die niedrigsten Werte finden sich mit 24 % bei MM, 25 % bei MF, 19 % bei OMS und 17 % bei CML.

Den Anteil der zerfallenden Megakaryozyten zeigt Abb. 17. Hier liegen die gefundenen Durchschnittswerte mit Ausnahme von MF (24 %) und MM (17 %) in ungefähr gleicher Höhe: Norm 30 %, ITP 30 %, PV 34 %, CML 33 %, OMS 38 % und PT 30%.

Abb. 18 zeigt den Anteil der pyknotischen Megakaryozyten. Während bei der Norm, ITP, PV, CML, PT und MM die Werte nicht über 5 % liegen, zeigt sich mit 14 % bei MF und 13 % bei OMS eine deutliche Zunahme dieser Untergruppe.

Den Anteil der atypischen Megakaryozyten zeigt Abb. 19. Bei der Norm, ITP, CML und MM ist ihr Anteil gering und liegt zwischen 2 % und 4 %. Demgegenüber findet sich mit 15 % bei PV, 19 % bei MF, 23 % bei OMS und 12 % bei PT eine deutliche Erhöhung dieser Untergruppe gegenüber den Normalfällen.

Abb.15: jugendliche Megakaryozyten

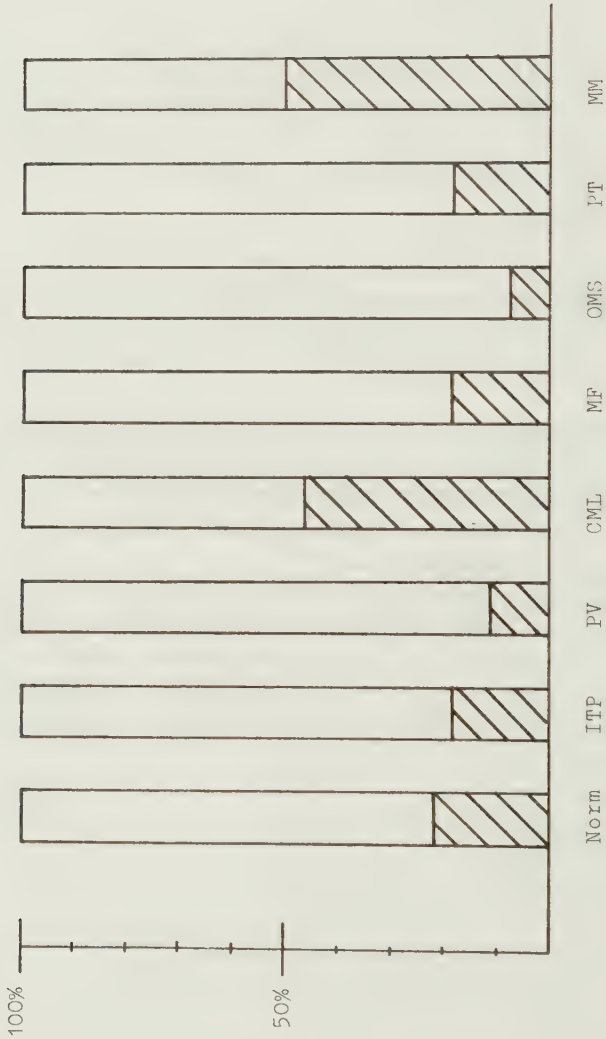


Abb. 16: reife Megakaryozyten

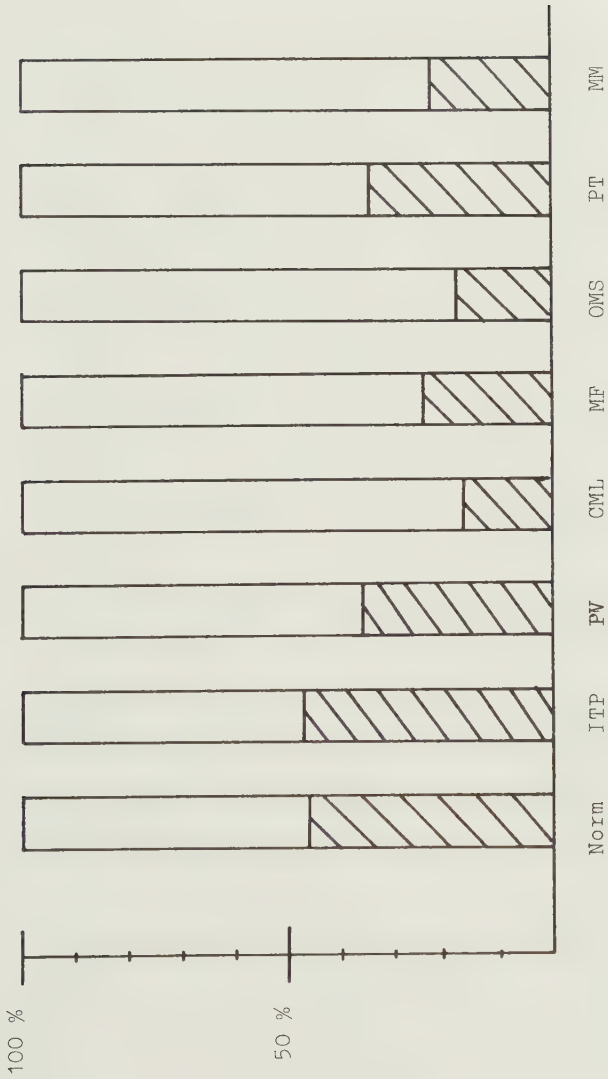


Abb.17: zerfallende Megakaryozyten



Abb.18: pyknotische Megakaryozyten

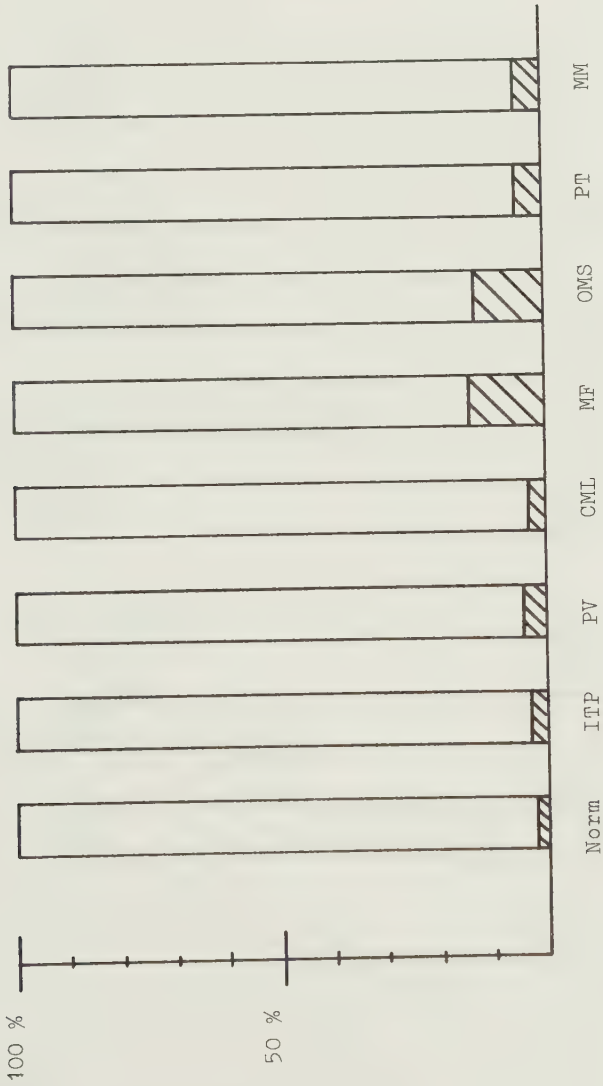
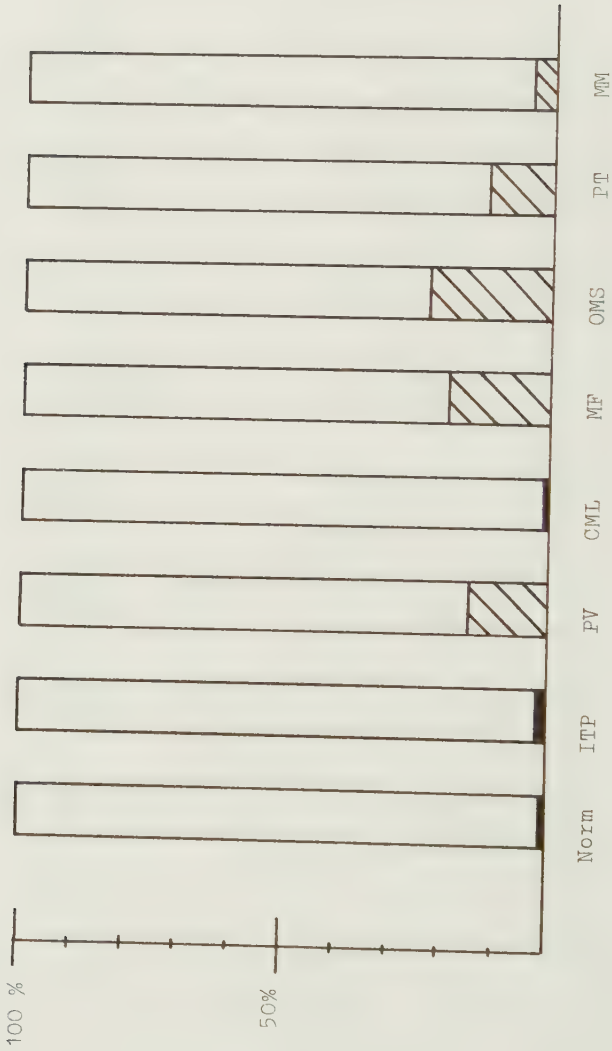


Abb.19: atypische Megakaryozyten



Einschlüsse der Megakaryozyten (Emperipolesis)

Die Häufigkeit der Fälle, bei denen mindestens ein Megakaryozyt mit Einschluß gefunden wurde zeigt Abb. 20.

Man erkennt, daß mit Ausnahme bei der CML (76%) bei allen anderen untersuchten Gruppen und auch bei den Normalfällen in über 80 % der Fälle Emperipolesis beobachtet wurde.

Bei PV und PT liegen die Werte mit 96 % besonders hoch.

Den durchschnittlichen Anteil der Megakaryozyten mit Einschlüssen bezogen auf die gesamte Megakaryozytenzahl je Gruppe zeigt Abb. 21. Hier ist noch die anfängliche Unterscheidung zwischen Männern und Frauen ersichtlich, die aber nur geringe und eher zufällige Unterschiede erkennen läßt. Daher wurde die Unterscheidung nach Geschlecht zu Gunsten größerer Gruppen aufgegeben.

Die höchsten Werte finden sich mit über 8 % bei PV, danach folgen MF und PT mit 6 - 7 %. Für die Normalfälle, ITP, CML, OMS, MM ergeben sich Werte zwischen 3 % und 5 %.

Abb.20: Anteil der Fälle mit Emperipolesis

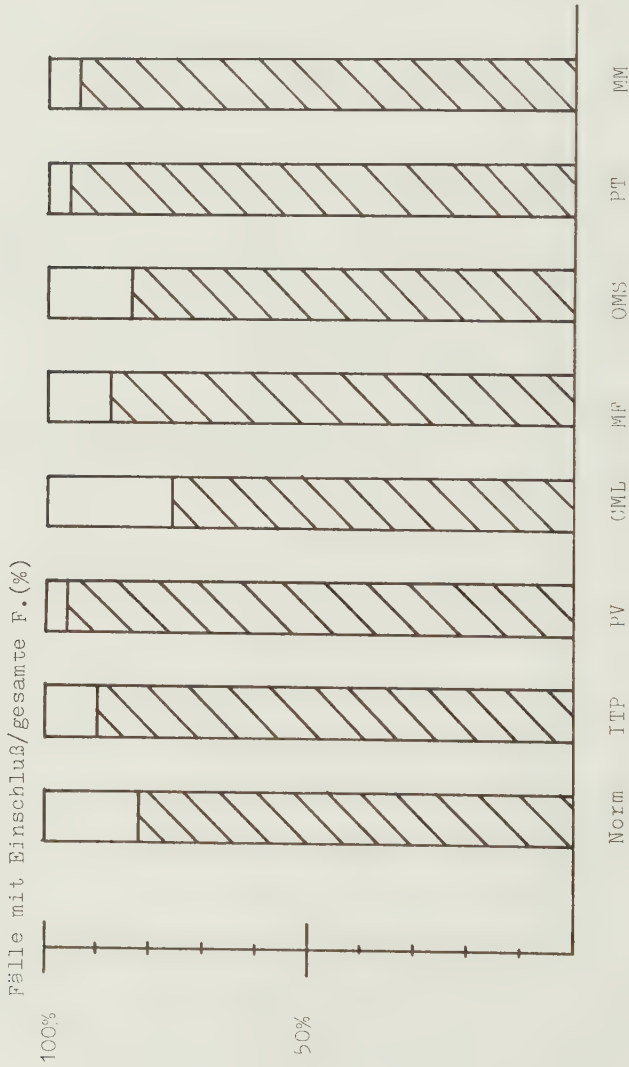


Abb. 21 : Anteil der Megakaryozyten mit Einschuß
an der Megakaryozytengesamtzahl



Die Unterscheidung der gefundenen Einschlüsse nach ihrer Zugehörigkeit zu einer der myeloischen Reihen zeigen die Abb.22-25.

Den Anteil der Granulozyten an den gesamten Einschlüssen je untersuchter Gruppe zeigt Abb.22. Mit 49 % kann ihr Anteil bei den Normalfällen angegeben werden. Höhere Werte findet man mit 60 % bei CML, 68 % bei MF, 57 % bei PT und 55 % bei MM. Unterhalb der Norm liegen ITP mit 30 %, PV mit 35 % und OMS mit 42 %.

Den Anteil der Normoblasten zeigt Abb. 23. Bei den Normalfällen liegt ihr Anteil bei 43 %. Bei ITP ist ihr Wert mit 55 % etwas erhöht, ungefähr im Normbereich liegen PV mit 44 % und OMS mit 40 %. Unterhalb der Norm liegen CML mit 28 %, MF mit 21 %, PT mit 21 % und MM mit 26 %.

Den Anteil der Erythrozyten zeigt Abb.24. Der Wert für die Normalfälle liegt hier bei 3 %. Bei den Krankengruppen findet man durchwegs erhöhte Werte, 9 % bei ITP, 10 % bei PV, 9 % bei CML, 9 % bei MF, 13 % bei OMS, 17 % bei PT und MM.

Den Anteil des gemeinsamen Vorkommens von Granulozyten und Normoblasten zeigt Abb.25. Der Wert bei den Normalfällen ist hier mit 5 % anzugeben. Deutlich erhöht ist der Wert mit 11 % bei PV. In der Höhe der Norm liegen ITP mit 6 %, OMS und PT mit 5 %. Darunter liegen CML und MM mit 3 % und MF mit 2 %.

Abb.22: Anteil der Granulozyten an den Einschlüssen

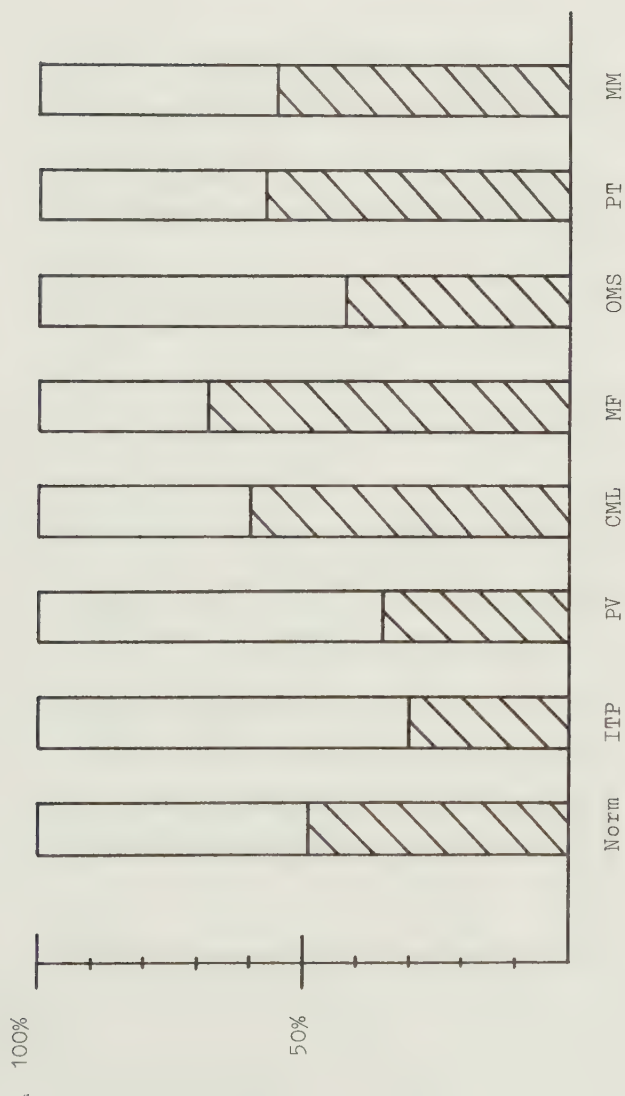


Abb.23: Anteil der Normoblasten an den Einschlüssen

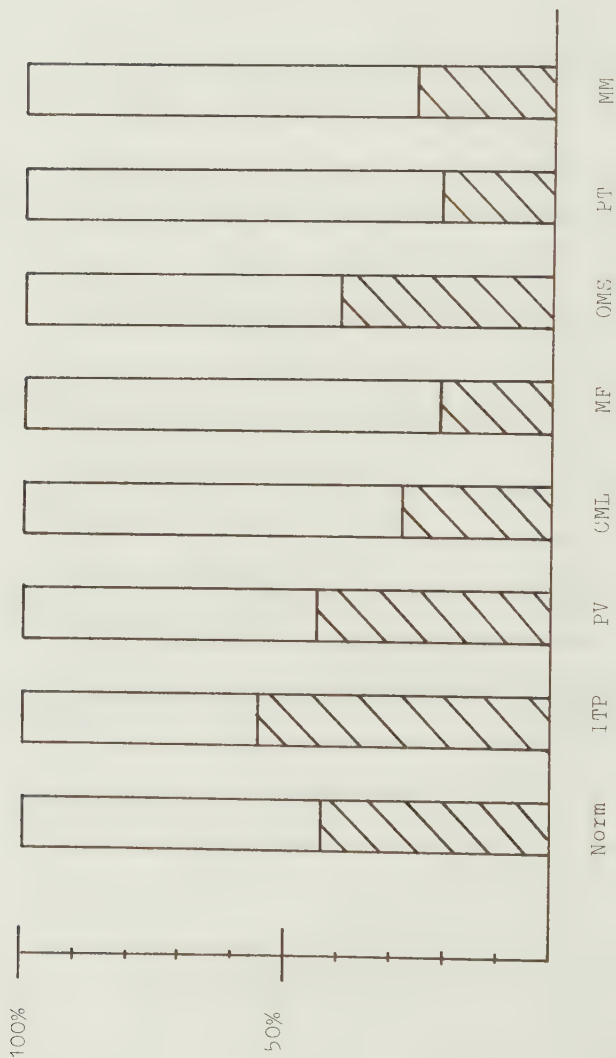


Abb.24: Anteil der Erythrozyten an den Einschlüssen

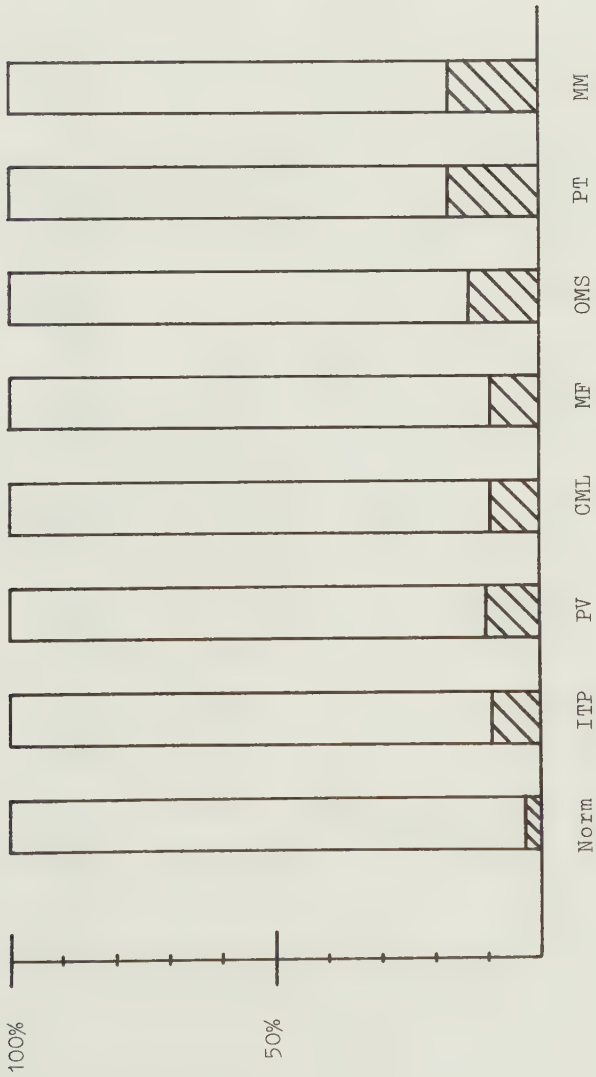
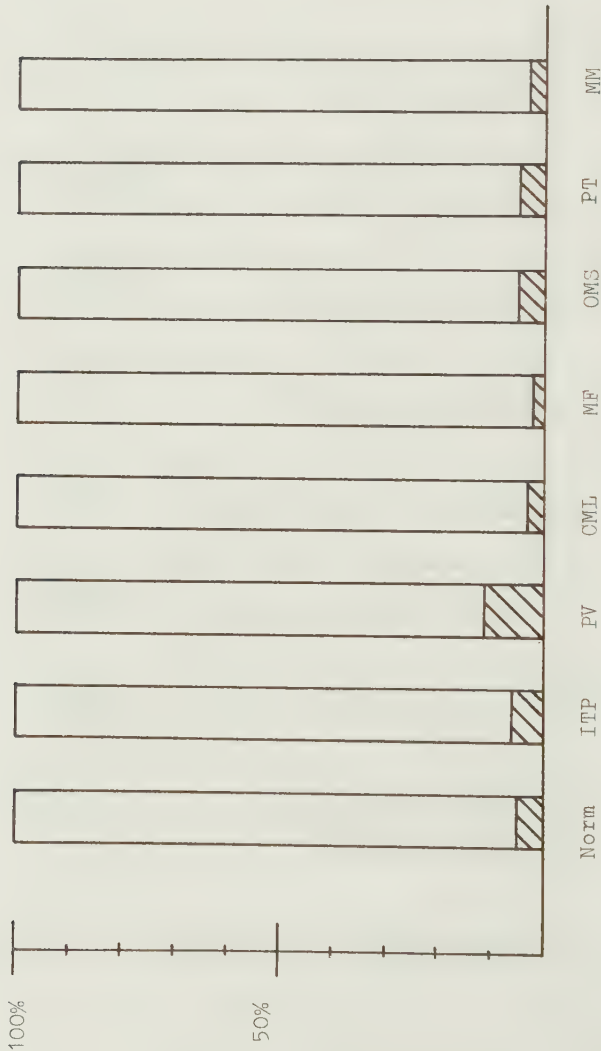


Abb.25: Anteil des gemeinsamen Vorkommens von Granulo-
zyten und Normoblasten an den Einschlüssen



Die Häufigkeit von Megakaryozyteneinschlüssen bei den verschiedenen Untergruppen der Megakaryozyten zeigen Abb.26-29.

Bei den jugendlichen Megakaryozyten (Abb.26) liegt die Einschlüßhäufigkeit mit Ausnahme bei MM durchwegs unter 1 %.

Bei den reifen Megakaryozyten (Abb.27) liegt der Durchschnittswert der gefundenen Einschlüsse bei allen untersuchten Gruppen zwischen 3 % und 4 % der ausgezählten Megakaryozyten.

Bei den zerfallenden Megakaryozyten (Abb.28) wurden bei den Normalfällen in 6 % Einschlüsse gefunden. Für die Krankengruppen ergaben sich wechselnde, doch insgesamt gegenüber den jugendlichen und reifen Megakaryozyten erhöhte Werte von 4 % bei ITP, 9 % bei PV, 7 % bei MF, 3 % bei OMS, 12 % bei PT und 7 % bei MM.

Bei den atypischen Megakaryozyten (Abb.29) liegen die gefundenen Durchschnittswerte deutlich über den bisher genannten Untergruppen der Megakaryozyten. Für die Normalfälle ergaben sich 30 %, 16 % für ITP, 29 % für PV, 17 % für CML, 20 % für MF, 8 % für OMS, 21 % für PT und 17 % für MM.

Abb.26: jugendliche Megakaryocyten mit Einschlüssen



Abb.27: reife Megakaryozyten mit Einschlüssen



Abb.28: zerfallende Megakaryozyten mit Einschlüssen

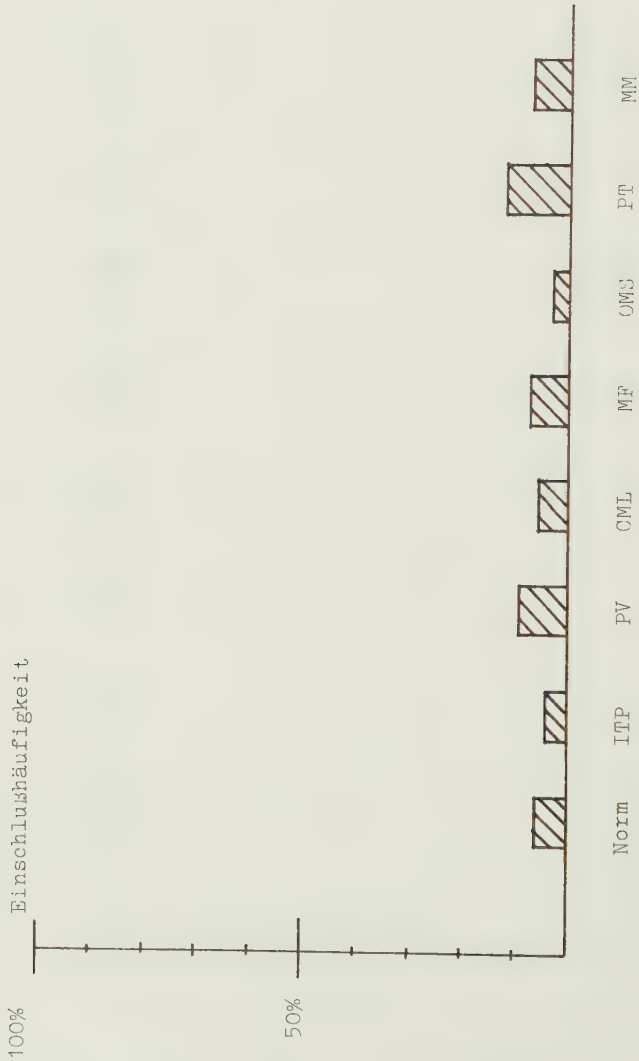


Abb.29: atypische Megakaryozyten mit Einschlüssen



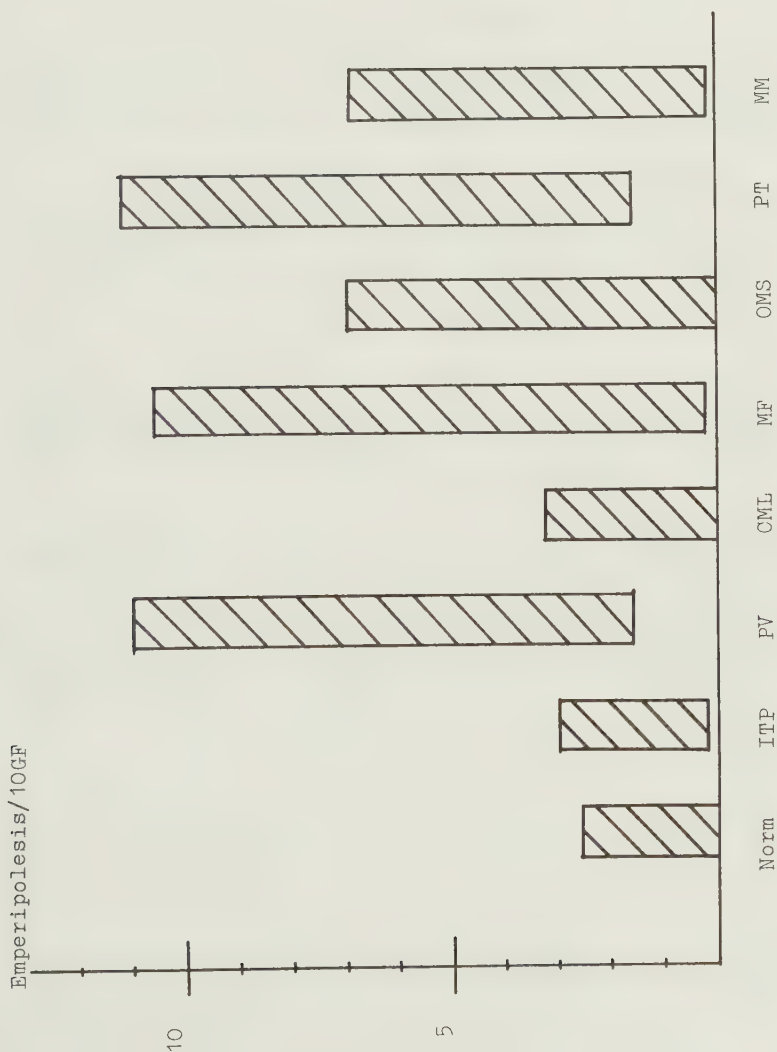
In den Abb.30 - 34 wurde nun versucht die Konsequenzen der bisher gezeigten Ergebnisse für den Untersucher darzustellen und die diagnostische Verwertbarkeit des Merkmals Emperipolesis aufzuzeigen. Dabei wurde die für den Untersucher zu erwartende Häufigkeit von Megakaryozyteneinschlüssen bei den Normalfällen und den Krankengruppen auf 10 bzw. 20 Gesichtsfelder bei 250 facher Vergrößerung bezogen. Die schraffierte Fläche stellt dabei den Bereich zwischen der einfachen Standardabweichung je Gruppe dar.

Die gesamten zu erwartenden Einschlüsse zeigt Abb.30. Die hohe Streubreite der Einzelwerte bedingt dabei, daß wenig oder keine Megakaryozyteneinschlüsse bei allen untersuchten Gruppen zu erwarten sind, und diese somit kein diagnostisches Kriterium im Einzelfall darstellen.

Die Bezugnahme auf die oberen Grenzwerte ist daher für die folgenden Angaben sinnvoll.

Diese Obergrenze ist für die Normalfälle, ITP und CML mit 3 Megakaryozyten mit Einschlüssen auf 10 Gesichtsfelder anzugeben. Bis zu 7 Einschlüsse wurden bei OMS und MM gefunden. Darüber liegen noch PV, MF und PT.

Abb.30: Einschlußhäufigkeit bezogen auf 10 Gesichtsfelder (Vergr.250x) ($\bar{x} \pm \text{sd}$)



Auf den Abb. 31 - 34 wurden nun die Einschlüsse nach ihrer Herkunft unterschieden und wieder für den Untersucher auf Gesichtsfelder bei 250 facher Vergrößerung bezogen. Entsprechend der geringeren Häufigkeit wurden hier allerdings 20 Gesichtsfelder zugrunde gelegt.

Die Häufigkeit der Granulozyten zeigt Abb.31.

Werte bis 4 Einschlüsse findet man bei den Normalfällen, bei ITP und CML, bis zu 7 Einschlüsse bei PV, OMS und MM. Die höchsten Werte mit oft über 10 Einschlüsse bei MF und PT.

Die Häufigkeit der Normoblasten zeigt Abb.32.

Bis zu 3 eingeschlossene Normoblasten finden sich bei den Normalfällen, bei ITP und CML. Bis zu 6 finden sich bei MF, bei OMS, PT und MM. Die höchsten Werte finden sich hier für die PV.

Die Häufigkeit der Erythrozyten zeigt Abb.33.

Bis zu 1 Erythrozyt findet sich bei den Normalfällen, bei ITP und CML. Bis zu 3 bei MF, bei OMS und MM. Darüber liegen PV und PT mit bis zu 4 Erythrozyten.

Die Häufigkeit des gemeinsamen Vorkommens von Normoblasten und Granulozyten zeigt Abb.34.

Bei den Normalfällen und allen untersuchten Krankheitsbildern mit Ausnahme der PV findet sich dieses Ereignis gewöhnlich weniger als 1 mal in 20 Gesichtsfeldern. Bei der PV findet man dieses Bild oft bis zu 3 mal.

Abb. 51: Einschlüsse von Granulozyten in 20 Gesichtsfeldern (Vergr. 250x) ($\bar{x}$ +/-sd)

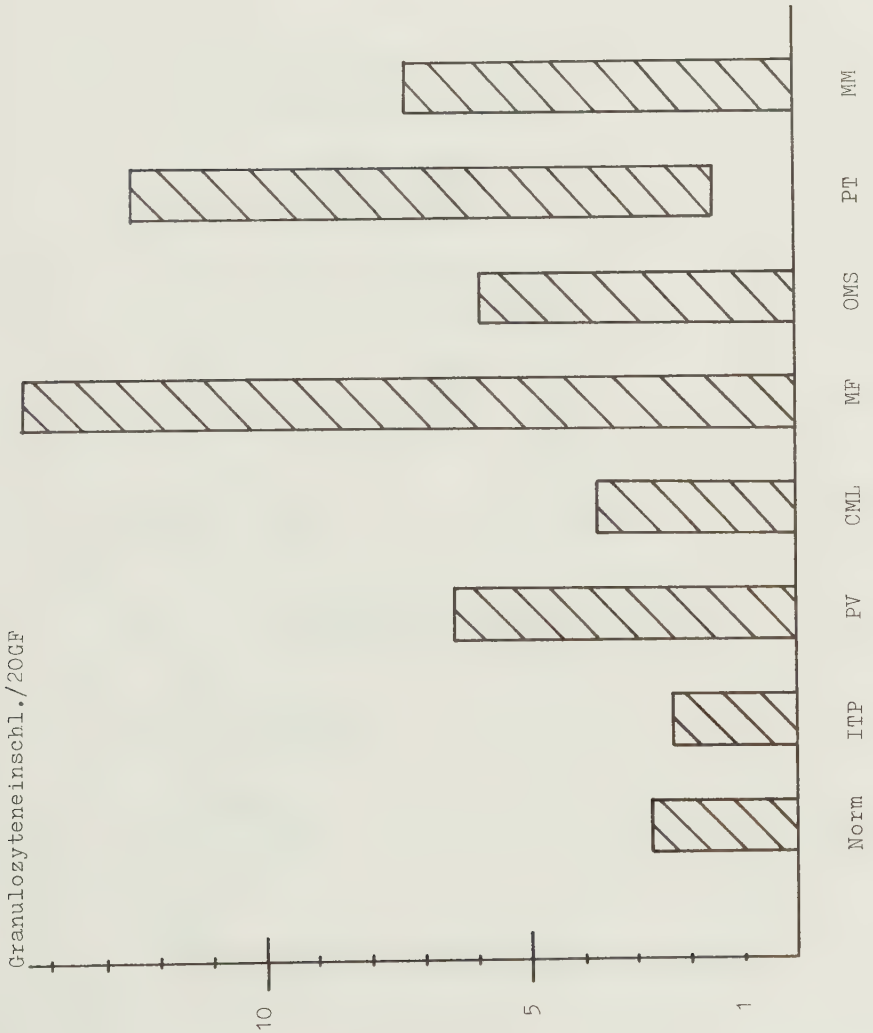


Abb.32: Einschlüsse von Normoblasten in 20 Gesichtsfeldern (Vergr.250x) ($\bar{x}$ +/-sd)

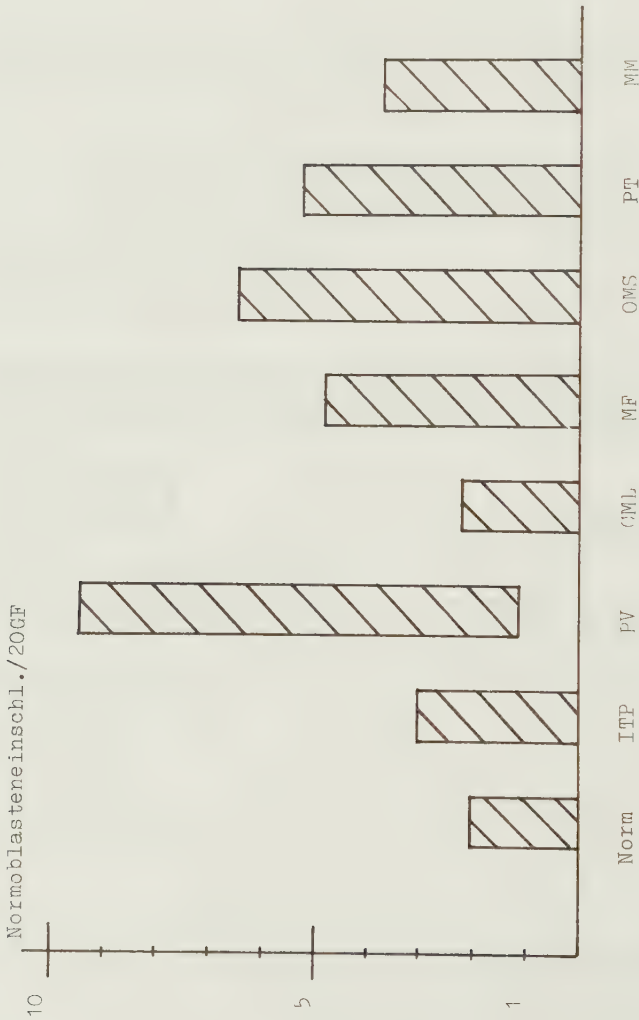


Abb.33: Einschlüsse von Erythrozyten in 20 Gesichtsfeldern (Vergr.250x) ($\bar{x}$ +/sd)

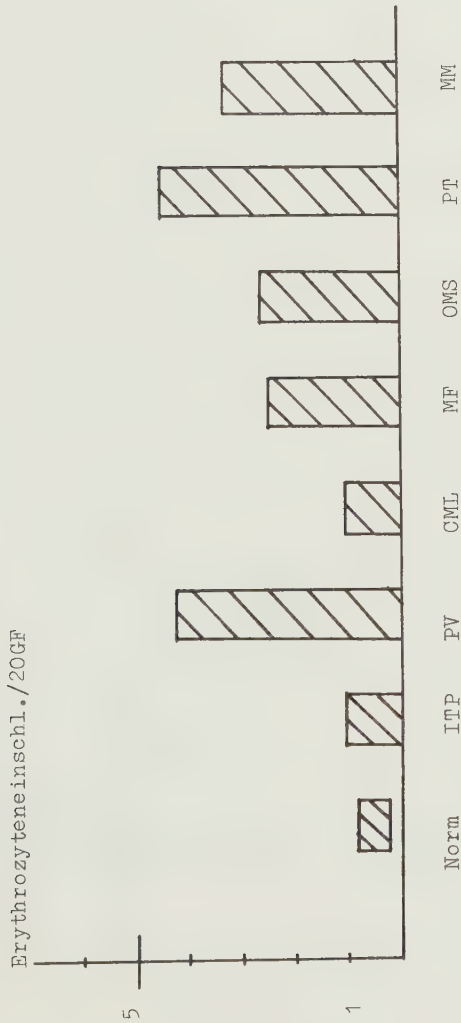
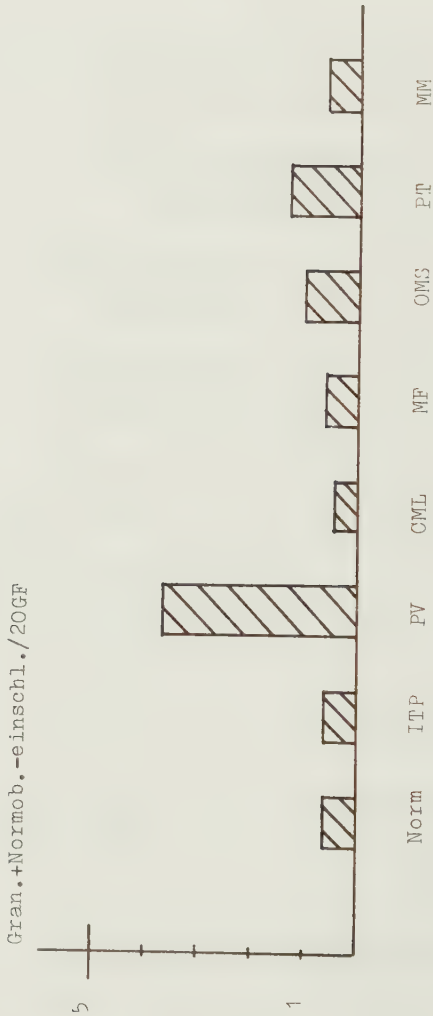


Abb.34: Einschlüsse von Granulozyten zusammen mit Normoblasten
in 20 Gesichtsfeldern (Vergr.250x) ($\bar{x}$ +/-sd)



Diskussion

In der Literatur (TAVASSOLI 1976, SOBOLEWSKI 1980) wurde das Phänomen Emperipolesis meist an einzelnen Fällen studiert und eine Beziehung zu den vorliegenden Krankheiten gesucht. BURKHARDT (1967) konnte Angaben über die Häufigkeit bei mehreren Fällen mit gleicher Grundkrankheit machen.

BRETON-GORIUS (1981) erwähnt schließlich das Vorkommen von Emperipolesis auch bei gesunden Personen, Angaben über die Häufigkeit liegen jedoch bis jetzt nicht vor.

In der vorliegenden Untersuchung konnten in Megakaryozyten eingeschlossene myeloische Zellen bei 82 % der untersuchten Vergleichspersonen gefunden werden.

Durchschnittlich zeigten bei den Erwachsenen 4 % im höchsten Fall 17 % und bei den Kindern 8 % im höchsten Fall 23 % der Megakaryozyten eingeschlossene Zellen.

Aus diesen Ergebnissen muß gefolgert werden, daß die Beobachtung von Megakaryozyteneinschlüssen allein keinen Anlaß gibt das Vorliegen eines gesunden Knochenmarks anzuzweifeln. Bedenkt man noch, wie minimal der beurteilte Ausschnitt im Vergleich zum gesamten blutbildenden Knochenmark ist, so muß davon ausgegangen werden, daß in Megakaryozyten eingeschlossene myeloische Zellen ein durchaus häufiges, in jedem Knochenmark vorkommendes Ereignis sind.

Damit rückt die Frage in den Mittelpunkt, ob die Beobachtung von Emperipolesis, wenn nicht qualitativ, so doch in ihrer Häufigkeit ein diagnostisches Kriterium für die Beurteilung eines Knochenmarkpräperates sein kann.

BRUGUES (1980) lehnt eine diagnostische Verwertbarkeit ab und sieht lediglich einen Zusammenhang zwischen der Zahl der ausgewerteten Megakaryozyten und der Häufigkeit des Phänomens.

Demgegenüber lassen die Ergebnisse dieser Studie jedoch eine gewisse diagnostische Verwertbarkeit des Phänomens erkennen. Bei Schlüssen aus unseren Beobachtungen ist zu berücksichtigen, daß zum einen sowohl bei der Kontrollgruppe als auch bei den Krankengruppen Fälle ohne Emperipolesis zu verzeichnen sind, und zum anderen die einzelnen Werte erheblich um den Mittelwert jeder Gruppe streuen.

Dessen ungeachtet ist festzustellen, daß bei der Kontrollgruppe, bei Fällen mit ITP und bei der CML das Phänomen der Emperipolesis seltener vorkommt als bei PT, PV und MF. Man findet da meist weniger als 3 Einschlüsse in 10 Gesichtsfeldern bei 250 facher Vergrößerung.

Findet man bei der Untersuchung mehr als 7 Einschlüsse in 10 Gesichtsfeldern bei dieser Vergrößerung, so ist mit großer Wahrscheinlichkeit PT, PV oder MF zu erwarten.

Neben der unterschiedlichen Häufigkeit der Emperipolesis bei den verschiedenen Krankheitsgruppen zeigen die Ergebnisse aber auch, daß nicht alle Untergruppen der Megakaryozyten in gleichem Maß davon betroffen sind.

So zeigten die jugendlichen Megakaryozyten im Durchschnitt nur in 1 %, die reifen in 3 %, dagegen die zerfallenden in 7 % und die atypischen gar in 20 % eingeschlossene fremde Zellen.

Damit erhebt sich die Frage, ob die am Ende der megakaryozytopoetischen Differenzierungsreihe stehenden Zellen das Phänomen deshalb häufiger zeigen, weil sie am längsten mit den Zellen ihrer Umgebung in Kontakt waren, und ob Eigenschaften der eingedrungenen Zellen dabei eine Rolle spielen können im Sinne von HUMBLE (1956).

Gegen diese Annahme spricht aber die nicht erheblich verschiedene Zusammensetzung der eingeschlossenen Zellen.

Granulopoese und Erythropoese waren etwa gleich stark beteiligt. 13 % der eingeschlossenen Zellen waren Erythrozyten.

Da bekannt ist, daß zumindest die Erythrozyten nicht eigenbeweglich ihre Lage verändern, ist es wahrscheinlich, daß die myeloischen Zellen passiv von den Megakaryozyten aufgenommen werden. BURKHARDT (1970) bezeichnete daher in seinen Arbeiten das Phänomen mit dem Begriff Intussuszeption.

An diesem Aufnahmeprozess können folgende Mechanismen beteiligt sein:

POON (1981) hat im Plasma einer gesunden Frau mit besonders vielen Megakaryozyteneinschlüssen Faktoren nachgewiesen, die Leukozyten an Megakaryozyten koppelten. Solche Faktoren sind für Normoblasten und Erythrozyten nicht bekannt, ihr Vorhandensein ist aber nicht auszuschließen.

Ein weiterer Erklärungsversuch geht von der Lage der eingeschlossenen Zellen innerhalb des Membransystems der Megakaryozyten aus. (SHELTON 1959, BRETON-GORIUS 1981)

Diese Membranen gelten als Einstülpungen der Zytoplasmamembran, die im Zuge der Zellreifung entstehen. (BEHNKE 1968, 1974, GEYER 1972, SHAKLAI 1978)

Es wäre denkbar, daß der Zellmembran der Megakaryozyten anliegende andere Zellen bei diesen Vorgängen mit eingestülpt werden können. Auch ist nicht ausgeschlossen, daß die beiden bisher genannten Mechanismen zusammenwirken.

Schließlich könnte auch die Wanderung der Megakaryozyten von ihrem Entstehungsort zu den Marksinus, in die sie die Plättchen ausschütten, eine Rolle spielen. (BURKHARDT 1969)

Es ist vorstellbar, daß die großen Megakaryozyten bei ihrer Wanderung durch das zelldichte Mark verschiedene Zellen gewissermaßen "aufwischen". Das gehäufte Vorkommen der Emperipolesis bei den reifen Megakaryozyten, die zu den Sinus hin wandern, spricht für diese Annahme.

Eine Beziehung zwischen der Häufigkeit von eingeschlossenen Zellen und den peripheren Thrombozytenwerten war allerdings nicht nachweisbar.

Unsere Ergebnisse bestätigen die von den meisten Untersuchern vertretene Ansicht, daß die Emperipolesis nicht mit Phagozytose gleichzusetzen ist. Die eingeschlossenen Zellen erschienen immer unverändert, an 10 Fällen konnte sogar die Mitose von Granulozyten in Megakaryozyten beobachtet werden.

Wir kommen damit zu dem Schluß, daß die Emperipolesis nicht von der Menge oder Art der umgebenden Zellen abhängt und von Phagozytose verschieden ist. Die Mechanik des Aufnahmevorgangs ist Bestand verschiedener Hypothesen. Unsere Untersuchung macht es wahrscheinlich, daß eine Beziehung zwischen Zellaufnahme und der Zytoplasmareife der Megakaryozyten besteht.

Es ist somit gerechtfertigt, einen Vorgang, der mit dem Begriff "Emperipolesis" unzureichend charakterisiert ist, weiter im Hinblick auf seine Bedeutung für den Vorgang der Thrombozytopoese zu untersuchen.

Zusammenfassung

Untersucht wurde das Phänomen der sogenannten Emperipolesis der Megakaryozyten an 100 Biopsien von gesunden Vergleichspersonen und je 50 Personen mit idiopathischen thrombozytopenischen Purpura (ITP), Polyzythämia vera (PV), chronisch myeloischer Leukämie (CML), Myelofibrose (MF), Osteomyelosklerose (OMS), primäre Thrombozythämie (PT) und megakaryozytärer Myelose (MM).

Die Megakaryozyten wurden in jugendliche, reife, in (Thrombozyten) zerfallende und atypische unterteilt, daneben wurden noch pyknotische Kerne unterschieden. Unter den eingeschlossenen Zellen wurden Granulozyten, Normoblasten und Erythrozyten in wechselnden Anteilen, allein oder gemischt gefunden.

Verglichen mit der Zahl der Megakaryozyten ist die Emperipolesis selten. Im Vergleichskollektiv konnten im Durchschnitt bei 4 % der Megakaryozyten Einschlüsse gefunden werden. Etwas niedrigere Werte ergaben sich bei ITP, CML, OMS und MM. Deutlich höher lagen MF und PT mit 6,6 % und PV mit 8,6 %.

Diese Unterschiede waren auf die verschiedenen Anteile der Untergruppen der Megakaryozyten in den einzelnen Gruppen zurückzuführen. Nur 1 % der jugendlichen, 3,3 % der reifen 6,6 % der zerfallenden und 19,7 % der atypischen Megakaryozyten zeigten im Durchschnitt die Einschlüsse.

Von den Einschlüssen entfielen 53 % auf die Granulopoese und 47 % auf die Erythropoese. 13 % der Einschlüsse waren Erythrozyten.

Es handelt sich also um eine nicht krankheitsspezifische Besonderheit, deren Ursache aus dieser Untersuchung nicht sicher abgeleitet werden kann.

Das Vorkommen unterschiedlicher Zelleinschlüsse, die sich aus den am häufigsten im Mark vorkommenden Zellen rekrutieren, macht eine aktive Rolle der Megakaryozyten bei der Emperipolesis wahrscheinlicher, als eine zellspezifische Affinität der aufgenommenen Zellen zu den Megakaryozyten. Die Bevorzugung größerer Megakaryozyten, deren Mobilität nachgewiesen ist, spricht für die Annahme, daß Größe und Beweglichkeit dieser Riesenzellen den vorübergehenden Einschluß anderer Knochenmarkszellen begünstigen, wobei der Zellgehalt und die Zellzusammensetzung des Knochenmarks eine zusätzliche Rolle spielen.

Ob diese Aufnahme das Verhalten der aufnehmenden Zellen verändert, ist nicht erkennbar. Unverändert erscheinen die aufgenommenen Zellen, in 10 Fällen wurden Mitosen der eingeschlossenen Zellen beobachtet.

Eine gewisse diagnostische Bedeutung des Phänomens Emperipolesis ist neben anderen wichtigen Kriterien darin zu sehen, daß beim Vorkommen von mehr als 7 Einschlüssen auf 10 Gesichtsfeldern (Vergr.250x) an PT, PV und MF zu denken ist. Bis zu 3 Einschlüsse je 10 Gesichtsfelder dürfen beim Gesunden, bei CML und ITP erwartet werden.

Literaturverzeichnis

- 1 BEHNKE,O. An electron microscope study of the megakaryocyte of the rat bone marrow. J.Ultrastruct.Res. 1968, 24, 412
- 2 BEHNKE,O.,PEDERSEN,NT. Ultrastructural aspects of megakaryocyte maturation and platelet release. aus BALDINI,MG.,EBBE,S. Platelets: production, function transfusion and storage. Grune & Stratton, New York 1974, 21
- 3 BESSIS,M. Traité de cytologie sanguine. Masson, Paris, 1954
- 4 BESSIS,M. Blood smears reinterpreted. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1976
- 5 BRETON-GORIUS,J. Aspects ultrastructuraux de la maturation des megakaryocytes humaines normales. Nouv.Rev. Hématol. 1973, 13, 504
- 6 BRETON-GORIUS,J.REYES,F. Ultrastructure of human bone marrow cell maturation. Int.Rev.Cytol. 1976,46,251
- 7 BRETON-GORIUS,J. On the alleged phagocytosis by megakaryocytes. Brit.J.Haematol. 1981, 47, 635
- 8 BRUGUES,RM.ROZMAN et al. Diagnostic significance of the so-called megakaryocytic emperipolesis. Rev.Diag. Biol. 1980, 29, 428
- 9 BURKHARDT,R. Clinico-histological aspects of immunohematology. Proc.IX Congr.Int.Soc.Hematol.II,605,1960

- 10 BURKHARDT, R. Die mesenchymale Knochenmarksreaktion bei hyperergischen Mesenchymkrankheiten. Klin. Wochenschrift. 1965, 43, 1299
- 11 BURKHARDT, R. Technische Verbesserungen und Anwendungsbereich der Histo-Biopsie von Knochenmark und Knochen. Klin. Wochenschrift. 1966, 44, 326
- 12 BURKHARDT, R. Histomorphologische Untersuchungen über die Rolle des Knochenmarks bei rheumatischen Krankheiten. Zeitschr. für die ges. exp. Med. 1967, 143, 1
- 13 BURKHARDT, R. PABST, W. Knochenmark-Histologie und Klinik der Polycythaemia vera. Arch. kon. Med. 1969, 216, 64
- 14 BURKHARDT, R. Die Morphologie der normalen und pathologischen Thrombopoese im Knochenmark. aus MARX, R. Thrombozyt. Lehmann, München, 1969, 34
- 15 BURKHARDT, R. Knochenbiopsie. Der Internist. 1970, 11, 351
- 16 BURKHARDT, R. Farbatlas der klinischen Histopathologie von Knochenmark und Knochen. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, New York. 1970
- 17 CAWLEY, J. C. HAYHOE, F. G. J. Ultrastructure of haemic cells. Saunders, London. 1973, 126
- 18 CHEN, L. T. HANDLER, E. E. R. An electron microscopic study of the bone marrow of the rat in an experimental myelogenous leukemia. Blood. 1972, 39, 99
- 19 EBBE, S. STOHLMANN, F. Megakaryopoiesis in the rat. Blood. 1965, 26, 20

- 20 FEINENDEGEN, LE. Kinetics of megakaryocyte proliferation.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 1962, 111, 177
- 21 FISCHER, A.DOLSCHANSKY, L. Über das Wachstum von Milz-
stromazellen in vitro. Arch.Entwicklungsmech.Organ.
1929, 116, 123
- 22 GEYER, G.SCHAAF, P. The megakaryocyte demarcation membrane.
Endoplasmic or superficial origin? Acta Histochem.
1972, 44, 187
- 23 HAEMERLI, F.STRAULI, P. Mobility of L 5222 rat leukemia
cells in the flattened state. Evidence against em-
peripolesis. Virchows Arch.B.Cell Pathol.1977, 24, 165
- 24 HALIL, O.BARRETT, A.J. Phagocytosis by megakaryocytes in
malignant disorders. Brit.J.of Haematol.1980, 46, 161
- 25 HUMBLE, J.G. JAYNE, WHW. Biological interaction between
lymphocytes and other cells. Brit.J.of Haematol.1956, 2, 283
- 26 JOACHIM, HL. Emperipolesis of lymphoid cells in mixed
cultures. Lab. Invest. 1965, 14, 1784
- 27 KINET-DENOEL, C.BRETON-GORIUS, J. Teneurs en ADN, ultra-
structure et activité péroxydasique des mégacaryo-
cytes médullaires dans un cas d'anémie réfractaire.
Nouvelle Rev.Franc.d'Hématol. 1973, 13, 661
- 28 LAGERLÖF, B. Cytophotometric study of megakaryocyte ploidy
in polycythemia vera and chronic granulocytic leu-
kemia. Acta Cytol.(Baltimore). 1972, 16, 240

- 29 LARSEN,TE. Emperipolesis of granular leukocytes within megakaryocytes in human hemopoietic bone marrow. Am.J.Clin.Tath. 1970, 53, 485
- 30 LEVINE,RF. Isolation and characterization of normal human megakaryocytes. Brit.J.of Haematol. 1980, 45, 487
- 31 LEVINE,RF. The origin, development and regulation of megakaryocytes. Brit.J.of Haematol. 1982, 52, 173
- 32 LEVINE,RF.HAZZARD,KC. The significance of megakaryocyte size. Blood. 1982, Vol.60, No. 5
- 33 MACDONALD,GA.DODDS,TC. Atlas of Haematology. 1968, 130
- 34 MACPHERSON,GG. Development of megakaryocytes in bone marrow of the rat: an analysis by electron microscopy and high resolution autoradiographie. Proc.of the Royal Soc. 1971, 177, 265
- 35 ODELL,TT.JACKSON,CW. Polyploidy and maturation of megakaryocytes. Blood. 1968, 32, 102
- 36 ODELL,TT. Megakaryocytopoiesis and its response to stimulation and supression. aus BALDINI,MG.EBBE,S. Platelets:production.... Grune&Stratton,New York 1974
- 37 PAGE,DL. Trinity College, Cambridge
- 38 POON,MC.PARMLEY,RT. Nonimmune interaction of leukocytes with platelets and megakaryocytes. Am.J.Hematol. 1981, 10, 341

- 39 SAHEBEKHTIARI,HA.TAVASOLI,M. Marrow cell uptake by megakaryocytes in routine bone marrow smears during blood loss. Scand.J.Haematol. 1976, 16, 13
- 40 SHAKLAI,M.TAVASSOLI,M. Demarcation membrane system in rat megakaryocyte and the mechanism of platelet formation. J.Ultrastruct.Res. 1978, 62, 270
- 41 SHELTON,E.RICE,ME. Studies on mouse lymphomas.Behavior of three lymphomas in diffusion chambers in relation to their invasive capacity in the host. J.Nat.Cancer Inst. 1958, 21, 137
- 42 SHELTON,E.DALTON,AJ. Elektron microscopy of emperipolesis. J.Biophysic.and Biochem.Cytol. 1959, Vol.6, No. 3
- 43 SOBOLEWSKI,S. Phagocytosis by megakaryocytes in malignant disorders. Brit.J.of Haematol. 1980, 45, 173
- 44 TANAKA,Y.GOODMAN,JR. Electron microscopy of human blood cells. Harper&Row, New York, 1972, 187
- 45 TROWELL,OA. The lymphocyte.Int.Rev.Cytol.1958,7,262
- 46 VAINCHENTER,W.GUICHARD,J. Growth of human megakaryocytic colonies in culture from fetal, neonatal and adult peripheral blood cells: ultrastructural analysis. Blood Cells. 1979, 5, 25
- 47 WITTERN,R. Institut für Geschichte der Medizin der Robert-Bosch-Stiftung, Stuttgart

- 48 WRIGHT, JH. The origin and nature of blood platelets.
Boston Med.Surg.J. 1906, 154, 643
- 49 WRIGHT, JH. The histogenesis of blood platelets.
J.Morphol. 1910, 21, 263
- 50 ZUCKER-FRANKLIN, D. Ultrastructural studies of hemato-
poietic elements in relation to the myelofibrosis-
osteosclerosis syndrome: megakaryocytes and platelets.
Adv.in Biosciences. 1975, 16, 127
- 51 ZUCKER-FRANKLIN, D. Atlas of blood cells.
Edi. Ernnes s.r.l. Milano, 1981

Herrn Professor Burkhardt danke ich für die Überlassung des
Themas und besonders für seine Bereitschaft mich immer hilf-
reich und kritisch zu unterstützen.

Herrn Professor Bartl und Herrn Dr.Mahl sage ich Dank für
ihre Hilfe in speziellen und organisatorischen Fragen, ohne
die mir ein zügiges Arbeiten nicht möglich gewesen wäre.

Lebenslauf

Am 10.2.57 wurde ich in Schwaigern geboren. Mein Vater Otto Kleinknecht und meine Mutter Marianne geb. Volz bewirtschafteten dort ihre Landwirtschaft. Von 1964 bis 1967 ging ich in Schwaigern zur Schule, danach wechselte ich ans Robert-Mayer-Gymnasium nach Heilbronn. Im Mai 1976 erhielt ich dort mein Reifezeugnis, im Juli wurde ich zum Wehrdienst eingezogen. Ich verweigerte den Kriegsdienst mit der Waffe und leistete ab Oktober Zivildienst am Kreiskrankenhaus in Brackenheim.

Im Wintersemester 1977 konnte ich an der Juristischen Fakultät in Heidelberg mein Studium aufnehmen. Zum Sommersemester 1978 wechselte ich nach Tübingen und immatrikulierte mich zusätzlich in Chemie. Im Sommersemester 1979 erhielt ich in Mainz einen Studienplatz an der Medizinischen Fakultät. Zum Wintersemester 1979 wechselte ich an die Freie Universität Berlin. Zum letzten mal wechselte ich im Sommersemester 1981 an die Ludwig-Maximilians-Universität nach München. Im Mai 1982 konnte ich die Arbeit bei Professor Burkhardt beginnen.

